

**TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERECI**  
**FAKULTA TEXTILNÍ**

**HABILITAČNÍ PRÁCE**

**Antibakteriální materiály a jejich biomedicínské aplikace**

**Antibacterial materials and their biomedical applications**

**Mgr. Irena Lovětinská-Šlamborová, Ph.D.**

**LIBEREC 2012**

## OBSAH

<b>Seznam použitých zkratk a symbolů .....</b>	<b>6</b>
<b>Použitá odborná terminologie .....</b>	<b>8</b>
<b>1. Úvod.....</b>	<b>10</b>
<b>2. Infekce ve zdravotnictví.....</b>	<b>12</b>
2.1. MRSA a další patogenní kmeny – problém současného zdravotnictví.....	12
2.2. Bakteriální kmen <i>Staphylococcus aureus</i> a MRSA .....	13
2.3. Klasifikace MRSA.....	15
2.4. Rezistence bakteriálního kmene MRSA vůči dostupným antibiotikům.....	17
2.4.1. Nové typy antibiotik.....	20
<b>3. Antibakteriální vrstvy.....</b>	<b>22</b>
3.1. Historie a význam nanovrstev .....	22
3.2. Současný stav problematiky .....	24
3.2.1. Oxid titaničitý – charakteristika a význam.....	24
3.2.2. Účinky TiO <sub>2</sub> ve formě vrstev .....	27
3.2.2.1. Princip antibakteriálního fotokatalytického účinku TiO <sub>2</sub> vrstev .....	27
3.2.3. Účinky TiO <sub>2</sub> ve formě nanočástic .....	28
3.2.4. Příprava hybridních a nanokompozitních vrstev metodou sol-gel.....	29
3.2.4.1. Základní charakteristika sol – gel metody.....	29
3.2.4.2. Pojmy sol a gel .....	30
3.2.4.3. Charakteristika organicko-anorganických hybridních materiálů .....	31
3.2.4.4. Příprava hybridních materiálů (vrstev) .....	32
3.2.4.5. Další způsoby přípravy hybridních vrstev metodami sol-gel.....	34
<b>4. Experimenty – příprava bioaktivních vrstev.....</b>	<b>35</b>
4.1. Bioaktivní nanokompozitní hybridní a hybridní vrstvy .....	37
4.1.1. Typy nanočástic použité pro přípravu nanokompozitních vrstev .....	37
4.1.2. Nové typy bioaktivních hybridních vrstev .....	38
4.1.2.1. Syntéza solů pro bioaktivní hybridní vrstvy .....	38
4.1.2.2. Bioaktivní vrstvy - nanášení a přehled materiálů, na které byly aplikovány .....	39
4.1.2.3. Vytvrzení vrstev .....	40
4.1.2.4. Značení vyvinutých typů vrstev .....	42
4.1.3. Testování vrstev .....	42
4.1.3.1. Mechanické a ostatní vlastnosti hybridních vrstev.....	42
4.1.3.2. Stabilita vrstev po opakované sterilizaci.....	44

4.1.4. Biologická účinnost.....	45
4.1.4.1. Použité bakteriální kmeny .....	45
4.1.4.2. Testování antibakteriální aktivity vrstev na textilních substrátech .....	48
4.1.4.3. Testování antibakteriální aktivity vrstev na pevných substrátech.....	49
4.2. <i>Výsledky</i> .....	50
4.2.1. Inhibice bakteriálního kmene <i>St. aureus</i> .....	50
4.2.2. Inhibice bakteriálního kmene MRSA.....	52
4.2.3. Nové typy hybridních a nanokompozitních vrstev (označení AD7).....	55
4.2.4. Hybridní vrstva s obsahem stříbra, mědi a zinku (označení AD9) .....	60
4.2.4.1. Hybridní vrstva AD9 na textilních substrátech .....	63
4.2.4.2. Ověření stability vrstev AD7 a AD9 na textilním substrátu .....	65
4.3. <i>Závěrečné shrnutí nejdůležitějších výsledků</i> .....	69
4.3.1. Přílohy k bioaktivním vrstvám .....	71
5.1. <i>Úvod - historie a význam</i> .....	73
5.2. <i>Rány a jejich charakteristika</i> .....	74
5.2.1. Infekce ran .....	74
5.2.2. Vybrané chronické rány .....	74
5.2.3. Rány a antibiotika.....	77
5.2.4. Hojení ran .....	78
5.2.4.1. Fáze hojení rány a jejich charakteristika .....	79
5.2.5. Funkce obvazu.....	81
5.2.6. Současná dostupná krytí ran.....	81
5.2.6.1. Aktuální možnosti obvazového krytí ran .....	81
5.2.6.2. Další možnosti obvazového krytí ran .....	84
5.3. <i>Biodegradabilní nanovlákná jako nosiče bioaktivních látek</i> .....	86
5.3.1. Anorganická nanovlákná.....	86
5.3.1.1. Křemičitá nanovlákná s antibakteriálním účinkem .....	87
5.3.1.2. Mechanismy účinků stříbra na bakteriální buňku .....	89
5.3.1.3. Testy zdravotní nezávadnosti křemičitých nanovláken .....	91
5.3.1.4. Antibakteriální testy .....	92
5.3.2. Organická nanovlákná.....	96
5.3.2.1. Chitosanová nanovlákná .....	96
5.3.2.1.1. Chitosanová nanovlákná jako obvazy .....	97
5.3.2.2. Nanovlákná s imobilizovanými léčivy .....	97

<i>5.4. Vlastní experimenty a výsledky</i> .....	98
5.4.1. Imobilizace antibiotik a enzymů na vybrané typy nanovláken .....	98
5.4.2. Imobilizace a průkaz enzymu esterázy .....	99
5.4.3. Imobilizace tetracyklinu .....	100
5.4.4. Průkaz imobilizovaného tetracyklinu .....	102
<i>5.5. Závěrečné shrnutí nejdůležitějších výsledků</i> .....	104
<b>6. Závěr</b> .....	<b>105</b>
<b>7. Literatura</b> .....	<b>108</b>
<b>8. Vlastní publikace</b> .....	<b>123</b>
<b>9. Přílohy</b> .....	<b>129</b>

### **Poděkování**

Na tomto místě chci poděkovat svým kolegům, kteří se spolu se mnou podíleli a podílejí na řešení tématice předkládané v této práci. Jmenovitě patří poděkování Mgr. Veronice Zajícové, Ph.D., Doc. Ing. Petru Exnarovi, CSc. a prof. Ing. Ivanu Stiborovi, CSc.

## Seznam použitých zkratk a symbolů

<b>APTMS</b>	3-amonipropyltrimethoxysilan
<b>ATCC</b>	American Type Culture Collection (certifikovaný bakteriální kmen)
<b>Ba</b>	Bavlna
<b>BPO</b>	Dibenzoylperoxid
<b>CA – MRSA</b>	Community-acquired/ associated MRSA
<b>CCM</b>	Česká sbírka mikroorganismů
<b>CFU</b>	Colony forming units
<b>CVD</b>	Chemická depozice z plynné fáze (Chemical Vapour Deposition)
<b>DMF</b>	Dimethylformamid
<b>DNA</b>	Deoxyribonukleová kyselina
<b>HA – MRSA</b>	Healthcareassociated MRSA
<b>IBAD</b>	Ion Beam Assisted Deposition
<b>IPTI</b>	Isopropoxid titanu
<b>JIP</b>	Jednotka intenzivní péče
<b>KCH</b>	Katedra chemie
<b>KNT</b>	Katedra netkaných textilií
<b>KTC</b>	Katedra textilní chemie
<b>LA – MRSA</b>	Livestock associated MRSA
<b>MMA</b>	Methylmethakrylát
<b>m-RNA</b>	Mediátorová ribonukleová kyselina
<b>MRSA</b>	Methicilin rezistentní Staphylococcus aureus
<b>PEG</b>	Polyethylenglykol
<b>PEO</b>	Polyethylendioxid
<b>PES</b>	Polyester
<b>PECVD</b>	Plasma Enhanced Chemical Vapour Deposition – lazmochemická depozice z plynné fáze
<b>PGA</b>	Polykyselina glykolová
<b>PLGA</b>	Poly (ethylenglykol)-g-chitosanu
<b>PMMA</b>	Polymethylmethakrylát

<b>PVA</b>	Polyvinylalkohol
<b>PVD</b>	Fyzikální depozice z plynné fáze (Physical Vapour Deposition)
<b>PVP</b>	Polyvinylpyrrolidin
<b>QCS</b>	Kvarterní chitosan
<b>SEM</b>	Rastrovací elektronová mikroskopie (Scanning Electron Microscopy)
<b>TEOS</b>	Tetraethoxysilan (jiný název tetraethylorthosilikát)
<b>TFA/HFIP</b>	Trifluoroctová kyselina/1,1,1,3,3,3–hexafluoro-2-propanol
<b>TMSPM</b>	3-(Trimethoxysilyl)propyl methakrylát, v literatuře také jako MPTMA, TMSM, nebo MSMA
<b>t-RNA</b>	Transferová ribonukleová kyselina

## **Použitá odborná terminologie**

### **Aerobní bakterie**

Bakterie, které ke svému rozmnožování a růstu potřebují kyslík.

### **Anaerobní bakterie**

Bakterie, které se rozmnožují a rostou bez přítomnosti kyslíku.

### **Angiopatický proces**

Jedná se o označení pro onemocnění cév, které je většinou nezánettivé.

### **Atraumatické krytí**

Krytí (obvazy) bez vyvolání bolesti u pacienta v místě přiložení obvazu, které zároveň umožní i snadné sejmutí obvazu z rány.

### **Biopersistence**

Stálost (odolnost) v živém organismu.

### **Cytokininy**

Látky, které stimulují dělení buněk.

### **Enteroviry**

Rozsáhlý a z hlediska lidské medicíny významný rod virů z čeledi Picornaviridae, jedná se o malé RNA viry. Způsobují různorodá onemocnění, zejména nervového systému, srdce, spojené se vznikem vyrážky. Viry jsou značně odolné a dlouhodobě přežívají např. v kontaminované vodě. Nemocní viry vylučují do stolice, protože viry se mj. rovněž množí ve střevní sliznici – odtud jejich název. Onemocnění zanechává trvalou imunitu.

### **Exsudát**

Je zánětlivý výpotek. Tvoří se v tělesných dutinách, v otevřených ranách. Bývá zkalenější někdy má až hnisavý charakter a obsahuje více bílkovin.

### **Fakultativní bakterie**

Bakterie, které se přizpůsobí podmínkám okolního prostředí. Pokud mají k dispozici kyslík, spotřebují ho, pokud ne, chovají se anaerobně.

### **Fibroblasty**

Buňky vaziva produkující základní vazivovou hmotu, včetně kolagenu.

### **Nozokomiální infekce**

Jedná se o infekci získanou v nemocnici u pacienta, který byl přijat do nemocnice z jiného zdravotního důvodu, než je tato infekce.



**Perorální podávání**

Podávání ústy.

**Plazmidy**

Součást genetického vybavení buňky. Nesou geny k vlastní replikaci, množí se nezávisle na chromozomech.

**Proliferace**

Bujení, novotvoření, růst. Podstatou procesu je zvyšování počtu buněk tzn. dělením, mitózou v tkáni či orgánu.

**Reepitelizace**

Termín popisující obnovu pokrytí epitelem.

**Vaskularizace**

Tvorba nových cév a jejich větvení v místě zacelující se a hojící rány. Je to základ pro to, aby nově vytvořené tkáň byla vyživována.

## 1. Úvod

V předložené habilitační práci jsem řešila problematiku likvidace patogenních bakteriálních kmenů, zejména pak likvidaci rezistentního bakteriálního kmene MRSA. Se stále stoupající hrozbou bakteriálních infekcí totiž stoupá nutnost vytvářet účinnější a vhodnější bariéry proti patogenním mikroorganismům, které napadají oslabené pacienty v nemocnicích, na jednotkách JIP, v neonatologických a transplantačních centrech. Možností řešení tohoto problému jsou antibakteriální chemické vrstvy (anorganické, organické nebo organicko-anorganické hybridní vrstvy), ve kterých jsou různými metodami fixovány ionty vybraných kovů, případně nanočástice mající antibakteriální schopnosti. Tyto vrstvy jsou nanášeny ve formě ochranných povlaků na různé substráty (sklo, keramiku, kov, plasty nebo textilní materiály).

Patogenní mikroorganismy napadají také otevřené rány a poraněnou kůži. Současná dermatologie proto stále hledá nové možnosti rychlejšího a efektivnějšího léčení kožních lézí a defektů. Jedná se především o bércové vředy, dekubity, dalším problémem je velká skupina těžce se hojících kožních ran včetně popálenin a tzv. diabetická noha u diabetiků. Hojení ran obecně představuje komplexní biologický proces, ve kterém hraje zásadní roli volba obvazového materiálu, který by měl splňovat určitá kritéria, díky kterým by se měla rána zbavit bakteriální kontaminace, následně se uzavřít a zahojit. Přesto, že v současné době existuje celá řada obvazového krytí, současná medicína se potýká s tím, že mnoho z výše uvedených ran není schopna vyléčit. Nezanedbatelným faktorem je i cena kvalitního krytí, která je poměrně vysoká a pro mnoho pacientů v současnosti nedostupná.

Proto jsem se zabývala i tímto problémem, kde jsem řešila vhodnou možnost vytvoření nanovlákněných obvazů s imobilizovanými biomolekulami, které by pomohly řešit tuto složitou problematiku. Myslím si, že právě tento typ krycího a obvazového materiálu má velkou budoucnost. Je ovšem nutné ve spolupráci s dermatology navrhnout celé schéma léčby těchto problematických ran.

Řešení uvedené problematiky je v současnosti nanejvýš prioritní, protože hrozba související s infekcemi MRSA [1], enteroviry [2], viry ptačí chřipky [3] a dalšími bakteriálními a virovými kmeny, se stává stále větším celosvětovým problémem. Patogeny se mohou mezi lidmi šířit mnoha různými cestami (vzduchem, vodou, potravinami, kontaktem s kontaminovanými předměty nebo oděvy). Nozokomiální infekce představují vysoké procento získaných onemocnění během hospitalizace v nemocnici. Právě vysoce rezistentní a stále mutující bakteriální kmen MRSA se na těchto typech onemocnění podílí vysokou

mírou. Dezinfekční strategie, které jsou široce používány k inaktivaci patogenů, nejsou dostatečně účinné. Není totiž možné a žádoucí kompletně sterilizovat životní prostor. Používané způsoby usmrcování bakterií způsobují tzv. sekundární znečištění životního prostředí.

Proto je nutné zabránit šíření a množení těchto patogenních bakteriálních kmenů jiným způsobem, než klasickou dezinfekcí. Velmi důležitou roli zde hraje prevence, tedy zabránění kontaminace pacienta, protože léčba je náročná, zdlouhavá a proti některým patogenům neexistují účinná antibiotika.

Předkládaná habilitační práce je členěna na dvě části. V první části se zabývám přípravou antibakteriálních vrstev sol-gel metodou. Tyto vrstvy byly aplikovány na vybrané typy substrátů (textilní materiál, keramika, sklo, polymethylmetakrylát - PMMA). Je zde shrnuta příprava vrstev, jejich mechanické vlastnosti a stabilita nanesených vrstev. Provedla jsem rozsáhlou bakteriologickou studii o účincích těchto vrstev na patogenní mikroorganismy, které činí problémy v nemocničních zařízeních. V této části jsou proto charakterizovány testované bakteriální kmeny, metody a normy, pomocí kterých jsem testy prováděla. Protože připravené a testované vrstvy byly vyvíjeny primárně proti inhibici bakteriálního kmene MRSA, první kapitola práce je věnována charakteristice, šíření a klasifikaci tohoto bakteriálního kmene.

Druhá část práce je věnována nanovlákněným obvazovým materiálům, na které jsem imobilizovala vybrané bioaktivní látky. Jednalo se zejména o antibiotika a enzymy. Protože se jedná o materiál, který je určený pro léčbu těžce se hojících ran, je tato část práce doplněna informacemi o základních typech problematických ran. Považovala jsem za nutné dále doplnit informace o fázích léčby rány vzhledem k tomu, že imobilizované látky mohou zasahovat do jednotlivých fází léčby.

Protože se v práci vyskytuje řada odborných lékařských termínů a ne všechny jsou vysvětleny přímo v textu, doplnila jsem vysvětlující informace v úvodní části práce pod použitými zkratkami a symboly.

V habilitační práci v části literatura jsou uvedeny zkrácené citace publikací, z tohoto důvodu příkládám do závěru práce plné citace svých publikací, které jsou součástí práce.

## 2. Infekce ve zdravotnictví

### 2.1. MRSA a další patogenní kmeny – problém současného zdravotnictví

Infekční choroby stále představují 45% úmrtí v zemích s nízkými příjmy, 85 % těchto úmrtí jsou způsobeny pěti nemocemi: akutní respirační infekce, průjemová onemocnění, HIV / AIDS, tuberkulóza a malárie.

Šíření infekcí ve zdravotnictví dnes ovlivňuje stovky milionů lidí po celém světě. Výzkumem, který proběhl v 55 nemocnicích 14 zemí zastupujících čtyři oblasti (jihovýchodní Asie, Evropa, východní Středozemní moře a západní Pacifik) bylo zjištěno, že v průměru 8,7% hospitalizovaných pacientů trpí infekcí během zdravotní péče. Více než 1,4 milionů lidí na celém světě trpí infekčními komplikacemi získanými v nemocnici. V USA asi 90 000 pacientů na tyto infekční komplikace umírá každý rok. 5% až 10% pacientů přijatých do nemocnice v moderním rozvinutém světě získá jednu nebo více infekcí. Riziko infekce při poskytování zdravotní péče v rozvojových státech je 2 až 20 krát vyšší než ve vyspělých zemích. V některých rozvojových zemích, podíl pacientů postižených infekcí může přesáhnout 25%. Ve Spojených státech je každý 136 pacient těžce nemocný v důsledku infekce získané v nemocnici, což je ekvivalent ke dvěma miliónům případů a asi 80 000 úmrtí ročně. V Anglii je více než 100 000 případů infekcí souvisejících se zdravotní péčí a vede k více než 5000 úmrtí ročně. V Mexiku je odhadem 450 000 případů infekce související se zdravotní péčí, 32 úmrtí na 100 000 obyvatel ročně.

Léčba pacientů s takto získanou infekcí například v Anglii představuje ročně až 1 miliardu liber, ve Spojených státech se jedná o 4,5 mld \$. V Mexiku činí roční náklady na léčbu 1,5 miliardy USD.

Počet antimikrobiálních - rezistentních mikroorganismů v nemocnicích jako je *MRSA (Methycilin Rezistentní Staphylococcus Aureus)* a *VRE (Vankomycin - Rezistentní enterokoky)* stále narůstá a jejich léčba je velmi obtížná. Pacienti jsou postiženi zejména nozokomiálními infekcemi. WHO [4] definuje zdravotní péči související s nozokomiální infekcí takto:

Jedná se o infekci získanou v nemocnici u pacienta, který byl přijat z jiného důvodu, než je infekce [5]. Jedná se o infekce získané v nemocnici, infekce objevující se po propuštění a také o profesní infekce u ošetřujícího a dalšího personálu nemocnice [6].

Následující čtyři typy infekcí [4] jsou z více než 80 % ve všech zdravotnických zařízeních:

- infekce urogenitálního traktu - obvykle spojena se zaváděním katétrů: tvoří asi 35% zdravotní péče spojené s infekcí
- pooperační infekce - jedná se o druhou nejvyšší frekvenci (cca 20%)
- infekce krevního řečiště v souvislosti s použitím intravaskulárního zařízení (cca 15%)
- pneumonie spojená s ventilátory (cca 15%)

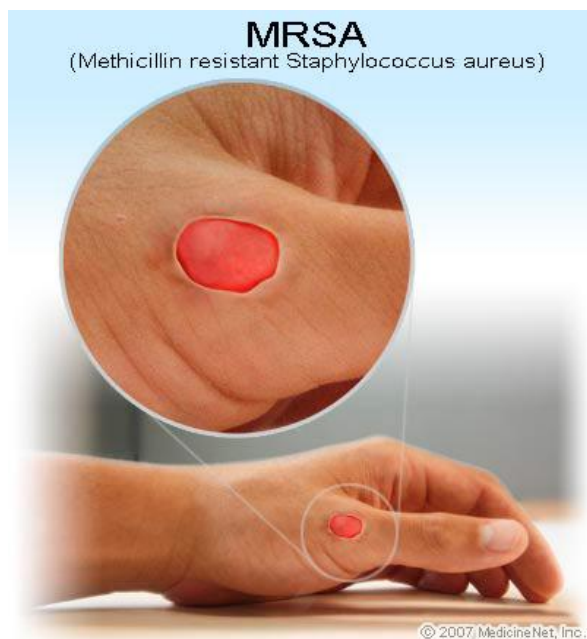
Několik studií ukazuje vysokou úroveň znečištění ochranného oděvu nemocničního personálu vancomycin resistantními enterokoky (VRE), znečištění rukavic a stetoskopů, kterými jsou pacienti infikováni. Mezinárodní směrnice doporučují, aby ochranný oděv nosili všichni zdravotničtí pracovníci, kteří mají blízko ke kontaktu s pacientem, zařízením nebo materiálem nemocnice.

## 2.2. Bakteriální kmen *Staphylococcus aureus* a MRSA

Bakterie *Staphylococcus aureus* (dále St. aureus) se běžně vyskytuje na kůži, na sliznicích v nose a ústní dutině u mnoha zdravých jedinců, u kterých nevyvolává žádné nežádoucí účinky. Stafylokokové bakterie mohou být příčinou celé řady onemocnění, včetně kožních infekcí (obr. 1, obr. 2), infekcí kostí, zápalu plic, život ohrožujících infekcí krve a mnoha dalších. St. aureus vyvolává infekci kůže a měkkých tkání, zpomaluje hojení dekubitů a jiných chronických ran. Může způsobit septický stav, který např. u seniorů většinou končí fatálně. U primárně ohrožených skupin může vyvolat pneumonii [7].



Obr. 1 - Horní končetina s ránou napadenou bakteriálním kmenem *St. aureus* (žlutá depozita v okolí rány jsou typická pro tento bakteriální kmen) [8].



*Obr. 2 - Příklad těžce se hojící rány napadené rezistentním bakteriálním kmenem MRSA – rána po vyčištění – zbavená bakteriální infekce [9].*

Bohužel se ukázalo, že jeho některé izoláty produkují toxiny zodpovědné za lokální kožní infekce, horečky a sled dalších dějů, které mohou vést k celkovému selhání organismu [10].

St. aureus je gram-pozitivní kokovitá bakterie. Systematicky patří do čeledi Micrococcaceae se dvěma rody (Micrococcus a Staphylococcus). Zároveň jde o velmi adaptabilní bakterii. Přesto, že ruce a nos jsou nejčastější místa kolonizace, můžeme St. aurea nalézt také v podpaží a tříslech. Odhaduje se, že přibližně 25% až 30% populace jsou nosiči St. aurea [11]. Tyto infekční mikroorganismy byly popsány již v roce 1800. Široké použití penicilinu k léčbě běžných infekcí v roce 1940 rychle vyprodukovalo rezistenci této bakterie na penicilin. Během let se u něj dále vyvíjela schopnost přežívat léčbu ostatními beta-laktamovými antibiotiky rezistentními proti beta-laktamáze, včetně methycilinu, dikloxacilinu, nafcilinu a oxacilinu.

V roce 1950 byla míra v nemocnicích penicilin-rezistentních kmenů St. aureus přibližně 40% a postupně vzrostla na 80% na počátku roku 1960 [90]. Methycilin semisyntetický penicilin byl představen v roce 1960, ale Methycilin - Rezistentní Staphylococcus aureus (MRSA) se již vyvinul během jednoho roku [12, 13].

MRSA (obr. 9) je definována jako izolát St. aurea, který je rezistentní vůči semisyntetickým penicilinům. Methycilinová rezistence u rodu Staphylococcus je způsobena methycilin-rezistentním genem (mecA), který kóduje výrobu penicilin-vazebných bílkovin.



V současné době je rezistence staphylococcových kmenů na methycilin zjišťována testováním pomocí polymerázové řetězové reakce, která se používá ke zjištění přítomnosti *mecA* genu [14].

### 2.3. Klasifikace MRSA

MRSA (obr. 3) je rozdělena do tří podtypů: HA-MRSA, CA-MRSA a LA-MRSA. B. [15].



Obr. 3 - Mikroskopický snímek kokovité bakterie MRSA [16].

#### a) MRSA spojená se zdravotní péčí (HA-MRSA)

**HA-MRSA** (Healthcare-associated MRSA) je typická u pacientů, kteří byli nedávno hospitalizováni (akutní péče, LDN, domovy seniorů). Zvýšené riziko nákazy tímto podtypem platí pro starší osoby, pro pacienty na jednotkách intenzivní péče, operační stavy, dialýzy, invazivní lékařské zákroky. Důležitou roli při získání nákazy představuje stav imunitního systému a nasazení širokospektrálních antibiotik [17,18,19].

#### b) MRSA spojená se společností (CA-MRSA)

**CA-MRSA** (Community-acquired/associated) je definována jako infekce MRSA u osob, které nejsou ohroženy rizikovými faktory výše popsány [20]. Profil jednotlivců, kteří jsou v ohrožení CA-MRSA se výrazně liší od těch, kteří jsou ohroženi HA-MRSA. CA-MRSA, se často vyskytuje u jinak zdravých jedinců, zvláště u těch, kteří nebyli hospitalizováni v uplynulém roce. Také byla zjištěna u specifických podskupin, jako jsou děti ve školách, členové sportovních týmů, vězni, vojenský personál [21, 22]. Jiné skupiny, které s CA-MRSA infekcí byly spojeny, jsou původní obyvatelé z Pacifických ostrovů, z Aljašky, domorodí

Američané, homosexuálové, intravenózní uživatelé drog a uživatelé nadměrného množství antibiotik [23, 24, 25]. Podmínky, které přispívají k přenosu CA-MRSA jsou špatná osobní hygiena, vzájemné sdílení osobních věcí s několika jedinci, špatné životní podmínky a nedostatek zdravotní péče [26, 27]. U relativně zdravých pacientů, byla CA-MRSA spojena s těžkými infekcemi kůže a měkkých tkání [24].

### **c) MRSA vyskytující se u hospodářských zvířat (LA – MRSA)**

**LA – MRSA (Livestock associated)** je kmen MRSA vyskytující se u hospodářských zvířat.

První případ MRSA byl zaznamenán ve Velké Británii již v roce 1961. V roce 1980 byl poprvé popsán komunitní přenos této bakterie. Od té doby se stal MRSA „nejúspěšnějším“ lidským patogenem vůbec. I přes vývoj nových antibiotik je infekce MRSA zatížena stále vysokou morbiditou i mortalitou.

V současnosti působí velké problémy v nemocnicích, především na odděleních JIP, kde napadá oslabené pacienty jakéhokoliv věku a pohlaví. Perioperační pracovníci tedy představují důležitý článek v prevenci vzniku a šíření MRSA, proto jejich odborná školení patří mezi moderní přístupy ve snaze vymýtit tohoto grampozitivního koka.

Likvidace tohoto vysoce rezistentního kmene se stává obrovským a celosvětovým problémem. Proti tomuto bakteriálnímu kmenu v podstatě neexistují účinná antibiotika. Při včasné diagnóze existuje pomoc v podobě kombinace antibiotik vankomycinu a streptomycinu. Uvedená antibiotika však mají řadu vedlejších účinků a v této kombinaci ještě více narušují již tak oslabený imunitní systém pacientů.

Podle závěrečné správy, kterou v prosinci roku 2010 vydal Státní zdravotní ústav České republiky [28], se v souvislosti s poskytnutím zdravotní péče v českých nemocnicích každoročně nakazí infekcí až 264 tisíc hospitalizovaných, tedy 12 % pacientů. Jedná se zejména o infekce respiračního a urogenitálního traktu nebo zánětlivá onemocnění, zejména pooperačních ran. Tyto infekce má na svědomí především bakteriální kmen MRSA. Na jednotkách intenzivní péče v ČR je nakažena čtvrtina nemocných. V ČR jsou infekce způsobené bakteriálním kmenem MRSA monitorovány od osmdesátých let 20. století. Například Brněnský Masarykův onkologický ústav dostal na rok 2011 z evropských fondů čtyři milióny korun na projekt s názvem „Prevence nozokomiálních infekcí“. Projekt je zaměřen na tři oblasti zlepšení hygienických podmínek. Jednou z těchto oblastí je právě rychlý záchyt a analýza multi-rezistentních kmenů odolných vůči antibiotikům [28].



V listopadu roku 2010 byla v Lékařských listech [29] uveřejněna statistika nárůstu počtu invazivních kmenů typu *St. aureus* a MRSA v českých nemocnicích v letech 2000-2008 (tab. 1). Během těchto let byl zaznamenán nárůst bakteriálního kmene MRSA o 10 %.

*Tab. 1 - Podíl MRSA izolátů na výskytu invazivních kmenů St. aureus v ČR [29].*

Rok	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Počet invazivních kmenů St. Aureus	515	1074	1168	1387	1444	1553	1520	1656	1715
% MRSA	4,3	5,9	5,9	6,1	8,5	12,9	12,3	12,9	14,3

Dle další publikované studie se v roce 2010 ve Velké Británii nakazilo až 12% pacientů bakteriálním kmenem MRSA během léčby v nemocnici [30]. Tato patogenní bakterie se může šířit mnoha různými cestami. Vzduchem, vodou, jídlem či kontaktem s kontaminovanými povrchy. Klasické dezinfekční postupy nelze aplikovat komplexně na celé prostory JIP oddělení nebo operačních sálů. Dostupné fyzikální (pára, vysoká teplota, ozařování) a chemické metody (chlorované prostředky) jsou buď neúčinné, nebo ničí životní prostředí. Protože jsou onemocnění způsobená tímto bakteriálním kmenem jen velmi obtížně léčitelná, základní podmínkou je to, aby byl ve zdravotnických zařízeních tento bakteriální kmen úplně eliminován. Zároveň je třeba zdůraznit, že léčba takto postižených pacientů je velice nákladná, zdoluhavá a díky tomu, že jsou postiženi převážně oslabení jedinci, mohou se při léčbě vyskytnout i mnohé komplikace, které mohou vést ke smrti pacienta.

#### ***2.4. Rezistence bakteriálního kmene MRSA vůči dostupným antibiotikům***

Primárním problémem léčby je rezistence tohoto bakteriálního kmene. Rezistence vůči antibiotikům byla poprvé popsána před téměř šedesáti lety a stala se důležitým tématem v roce 1960, kdy byla zjištěna rezistence plasmidů. V té době však stále převládal pokrok ve vývoji a zavádění nových antibiotik. Tato situace se změnila na začátku roku 1990, kdy nastala rezistence několika patogenních bakteriálních kmenů, a v té době používaná antibiotika začala být na ně neúčinná [31]. Patogeny odolné vůči antibiotikům se staly důležitou a rostoucí hrozbou pro veřejné zdraví. Rezistence obecně vzniká na staré i nové typy antibiotik. Proto je nutné, aby farmaceutické firmy stále vyvíjely nové účinné látky. Existuje primární rezistence, která představuje přirozené vlastnosti mikroorganismu. Sekundární rezistence (získaná mutací) vzniká nevhodným zacházením pacienta s antibiotiky

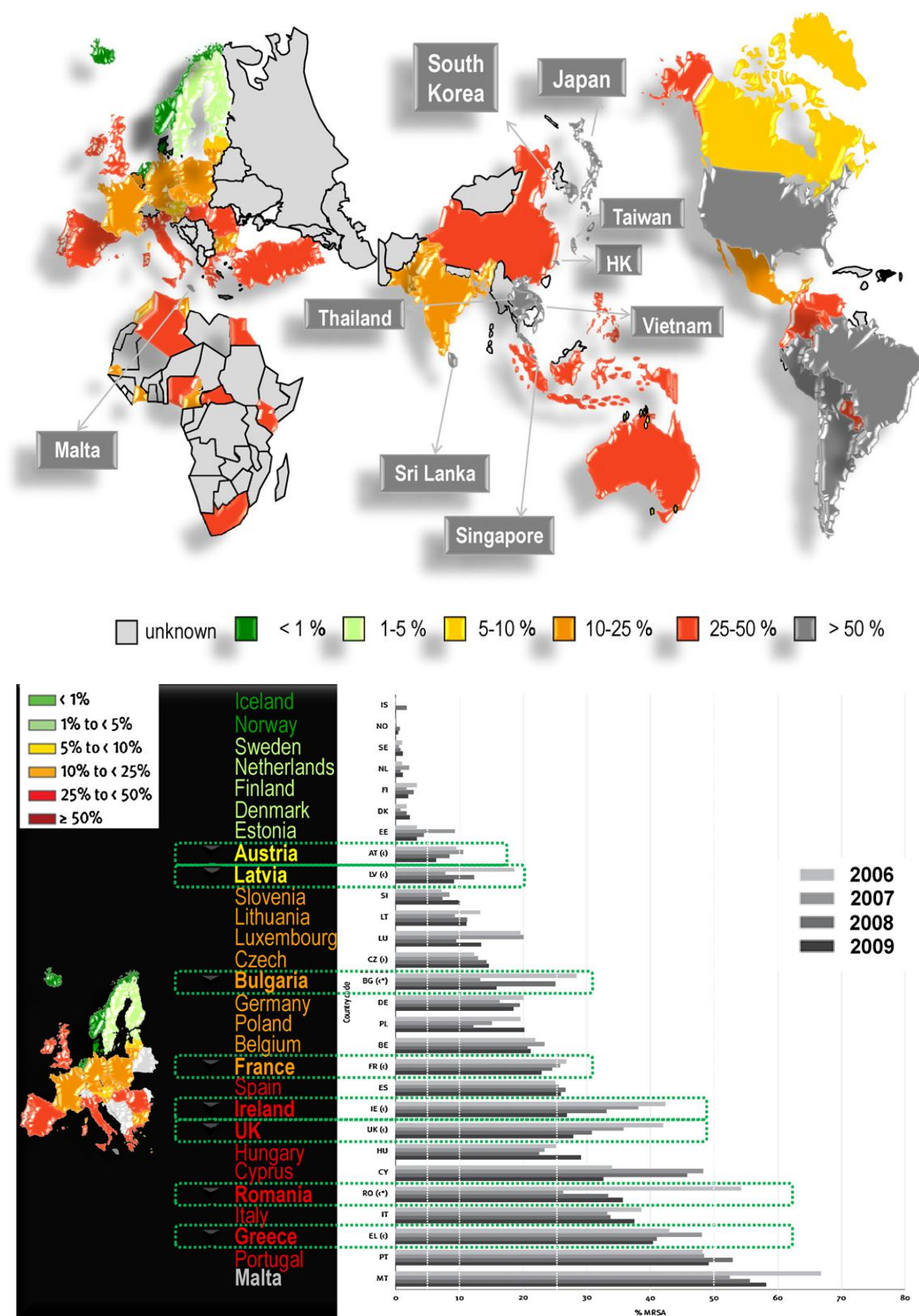
(nedobráni celé dávky, nedodržení dávkování,...) nebo předepsáním antibiotika na virová onemocnění (často na výslovnou žádost samotného pacienta). Posledním typem je zkřížená rezistence, která vzniká proti celému spektru bakterií.

WHO v roce 2001 vyvinula globální strategii pro omezování antimikrobiální rezistence [32]. Molekulární mechanismy rezistence tohoto bakteriálního kmene byly podrobně zkoumány [33, 34]. Vznik a šíření (MRSA) nozokomiálních infekcí vedly k vytvoření značného počtu doporučení pro kontrolu infekce a omezování antibiotické rezistence. Evropská antimikrobiální podpora systému Surveillance (EARSS) ukázala, že úspěch při kontrole MRSA byl největší ve státech Dánsko, Finsko, Nizozemsko [35, 36, 37]. Uvedené státy dodržují přísné zásady pro kontrolu infekcí, včetně aktivního sledování kultur k identifikaci kolonizovaných pacientů.

Díky výzkumu a statistickému sledování je znám mechanismus vzniku rezistence tohoto bakteriálního kmene k antibiotikům i jeho způsob šíření, je známá i účinnost dozoru a příslušné postupy kontroly infekcí [38]. K dispozici je také rozsáhlá literatura o doporučeních pro používání antibiotik [39].

Před více než 30 lety byly MRSA kmeny identifikovány jako hlavní zdroj nozokomiálních infekcí. MRSA je považována za významnou sekundární příčinu úmrtí. Bakterie MRSA jsou nyní rozšířené v celé Evropě, začíná se hovořit o "EURO přenosu infekce". Problém může ještě zhoršit liberální užívání antibiotik.

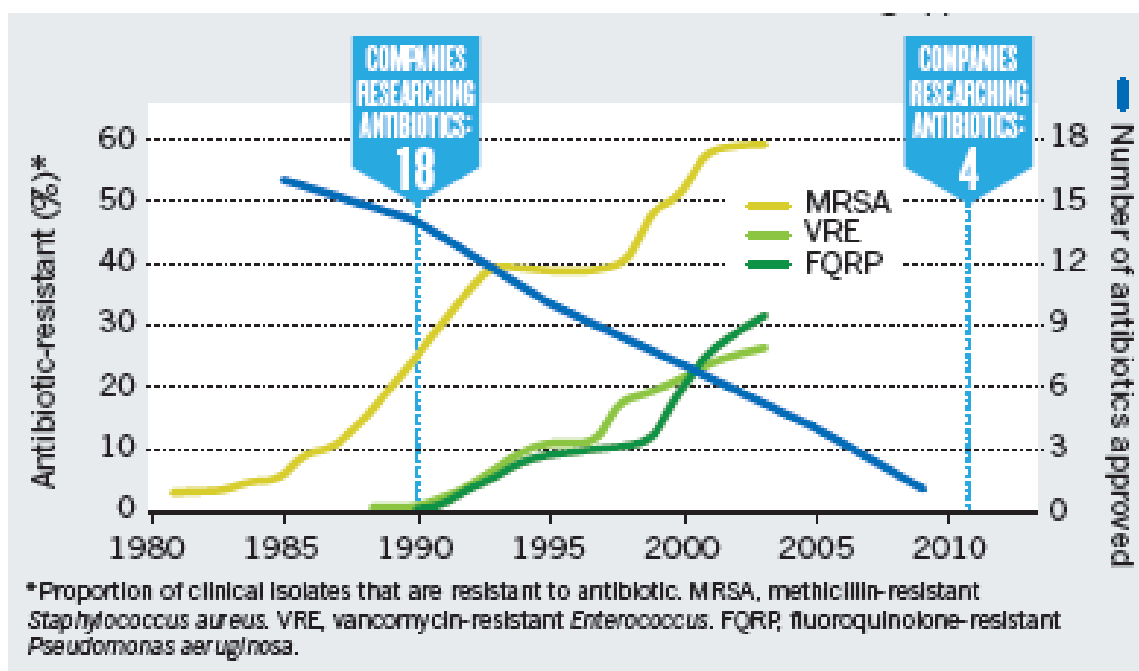
Dle studií společnosti Paula Ehrlicha pro chemoterapii ve střední Evropě vyplývá, že nárůst výskytu MRSA se zvýšil z 1,7% v roce 1990 na 20,3% v roce 2001. Výskyt MRSA evropských zemích (Dánsko, Finsko, Nizozemsko) zůstal ve stejném období na nízké úrovni (cca 1,8%). Počty MRSA v německých nemocnicích se značně liší v celé zemi (rozsah : <1% - 30%). Japonsko má výskyt MRSA > 50 %. Výskyt MRSA v Latinské Americe se pohybuje mezi 26 – 50%. Výskyt MRSA v celosvětovém měřítku dokresluje níže uvedená mapa (obr. 4).



Obr. 4 - Rozšíření MRSA v evropských zemích v letech 2006 – 2009 [40].

### 2.4.1. Nové typy antibiotik

V posledních 40 letech byly vyvinuty pouze čtyři nové třídy antibiotik. Světová zdravotnická organizace předpovídá katastrofy v důsledku rychlého, nekontrolovaného nárůstu antibiotické rezistence. Rezistence vůči antibiotikům, ale nemůže být odstraněna sama o sobě. Je třeba rychle zajistit trvalou podporu vlád a průmyslu na vývoj nových léků a hlavně zabránění šíření infekce a nakažení pacientů. Přes stále se zvyšující rezistenci vůči antibiotikům, farmaceutické firmy snižují výzkum antibiotik a v důsledku toho je méně nových antibiotik schvalováno (obr. 5)



Obr. 5 - Počet schválených antibiotik statistika z dubna roku 2011 [41].

Finanční prostředky pro biotechnologické společnosti jsou rizikovým kapitálem a státní dotace nemohou pokrýt veškeré náklady na vývoj a testování léků, které se dostanou do oběhu a na které se může objevit rezistence. Mnoho velkých farmaceutických společností proto opustilo výzkum a vývoj antibiotik. Pouze několik z nich je schopno registrovat a uvádět na trh nové sloučeniny (preparáty). Řešení byla diskutována v posledním desetiletí, ale žádná konkrétní opatření nebyla přijata. Před koncem roku 2011, vláda USA a Evropská unie (EU) byly nuceny tuto problematiku řešit právními předpisy.

Zhruba 2 miliony pacientů v EU se ročně nakazí nemocniční infekcí (z toho 175 000 na ni zemře). Rezistence vůči antibiotikům se stala globální zdravotní krizí, vyžadující globální řešení, jinak se význam jednoho z nejvzácnějších vědeckých objevů dvacátého století (penicilinu) ztratí v jednadvacátém století.

V roce 2010 se na trhu objevila tři antibiotika, která mají baktericidní účinek proti MRSA, VRSA a dalším patogenním kmenům. Jedná se o *DAPTOMYCIN* (lipopeptid). Dalším vyvinutým antibiotikem je analog tetracyklinu *TIGECYKLIN* (odvozený od minocyklinu), který působí i proti dalším patogenním kmenům (*Proteus* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*). Třetím antibiotikem je *COLISTIN* (cyklické polypeptidové antibiotikum ze skupiny polymixinů). Byl prokázán baktericidní účinek proti *Pseudomonas aeruginosa*, MRSA, VRSA, *Acinetobacter baumannii*, *Proteus* sp. a *Serratia marcescens*. Otázkou ale stále zůstává, jak dlouho budou tato nová antibiotika účinná proti těmto stále mutujícím bakteriálním kmenům.

### 3. Antibakteriální vrstvy

Řada výzkumných center a laboratoří po celém světě se proto snaží vytvořit takové materiály, které by vykazovaly bakteriostatický (zamezily množení bakterie) nebo baktericidní (usmrcení bakterie) účinek.

#### 3.1. *Historie a význam nanovrstev*

Bioaktivní materiály ve formě nanovrstev jsou v posledních 20 letech intenzivně zkoumány. Bioaktivní nanovrstvy se staly tématem poměrně rozsáhlého počtu publikací zejména v posledních sedmi letech. Nicméně dodnes v podstatě stále neexistuje přesná definice pojmu bioaktivní nanovrstva.

Používaný termín biocer (biologická keramika) charakterizuje anorganické nanomateriály s pevně vázanými biologickými komponentami jako jsou enzymy, proteiny nebo buňky [42-49]. Nové kompozitní materiály jsou připravovány s pevně fixovanými bio složkami přímo v anorganických xerogelech. Tímto způsobem získávají příslušné materiály biologické funkce, které jsou stálé nebo dočasné.

Komplexnější definice, pojmu bioaktivní nanovrstva, charakterizuje typy nanovrstev, které vykazují určitý druh biologické funkce, kterou nevykazují čisté biologické materiály. Tato definice může zahrnovat také anorganické bioaktivní složky jako je stříbro vykazující antimikrobiální vlastnosti [50], oxid titaničitý interagující s biotinem a proteiny [51] nebo aluminosilikáty zkvalitňující biokompatibilitu [52].

Modifikované nanosoly obsahující organické komponenty představující další typy bioaktivních nanovrstev. Příkladem modifikace povrchu pomocí uvedených solů jsou poly(ethylenglykoly) sloužící k prevenci bio znečištění. Bioaktivní látka (molekula) může být celá pevně fixovaná do nanovrstvy. Jedná se například o proteiny nebo glykosaminy zlepšující biokompatibilitu potahovaných materiálů pro antimikrobiální polymerní povrchy [53-57].

Velmi zajímavé je uplatnění bioaktivních nanovrstev pro textilní materiály používané k přímému kontaktu s pokožkou (obvazy, spodní prádlo, ložní prádlo). Bioaktivní látky, které nejsou pevně fixovány, se mohou uvolňovat do okolního média a interagovat s biologickým systémem [58]. V tomto případě hraje důležitou roli pro aktivní biomolekuly matrice nanosolu. Typickým příkladem jsou nanovrstvy postupně uvolňující antimikrobiální



sloučeniny nebo systémy kontrolovaného uvolňování léčiv [59, 60]. Důležitou podmínkou pro přípravu takovýchto systémů je přizpůsobení a stanovení rychlosti procesu uvolňování. Proces uvolňování musí být dostatečně rychlý a garantující efektivnost. Zároveň je nutné, aby systém uvolňoval léčivo plynule. Tyto aplikace postupného uvolňování antibakteriálních látek jsou vhodné i na textilní substráty, kde působí stejným mechanismem – během praní či nošení textilie. Pravděpodobně komerčně nejdůležitější bioaktivní nanosol systémy prezentují antimikrobiální vrstvy, také nazývané jako samosterilizační vrstvy [61] nebo jako hygienické vrstvy [62].

Usazování mikroorganismů na textiliích má několik důvodů. Jedním z nich je strukturovaný povrch tkaniny nebo pleteniny, který umožňuje velmi dobrou adhezi mikroorganismů. Vlhké prostředí, které je zajištěno vznikem potu na pokožce uživatele textilního výrobku, zaručuje vhodné prostředí pro jejich množení. S ohledem na teplotu a vlhkost textilie při kontaktu s pokožkou jsou tedy mikroorganismům poskytovány optimální podmínky pro jejich růst. Antimikrobiální vrstvy na textiliích mohou sloužit jako prevence proti degradaci textilních vláken a zároveň redukovat četnost bakterií. Tím sekundárně potlačují tvorbu zápachu spojeného s mikrobiální degradací, chrání pokožku uživatele a zabraňují přenosu a šíření patogenů [63, 64]. Ekonomický a ekologický význam antimikrobiálních úprav textilních materiálů je proto velmi důležitý. Antimikrobiální úpravy nacházejí uplatnění u armádního oblečení, zdravotnických textilií, ložního povlečení, sportovního a spodního prádla [65].

Speciální uplatnění nacházejí antimikrobiálně upravené textilní materiály v oblasti zdravotnictví. Předpokládá se, že tyto textilní materiály se budou pravděpodobně podílet na snížení rozšiřování multirezistentních bakteriálních kmenů (především MRSA). V souvislosti s výskytem těchto patogenních bakteriálních kmenů neustále rostou nároky na zlepšení čistoty prostředí v nemocnicích [66]. Antimikrobiální úpravy pro oblečení zaměstnanců v nemocnicích nebo úpravy ložního prádla, zejména na odděleních JIP či operačních sálech, by mohly být důležitou částí garance hygienických podmínek [67].

Komerční produkty, které jsou v současnosti dostupné, jsou vyráběny ze speciálních vláken s pevně fixovanými organickými biocidními látkami jako jsou bis fenoly, nebo inkorporované stříbro, případně chitosanová vlákna [68, 69]. Xu a kol. 2006 provedli bakteriální testy na bavlně ošetřené  $\text{TiO}_2$  hydrosolem. Během ozařování UV A došlo k redukci kmenů *St. aureus* a *Escherichia coli* až o 95%. Antimikrobiální efekt byl zachován i po 50 pracích cyklech.

Dlouhodobá antimikrobiální ochrana textilií může být realizována, jestliže se použijí nedifundující antimikrobiální složky v kombinaci s anorganickým solem. Nedifundující systémy se realizují přímou kovalentní vazbou biocidu k matici nanosolu nebo kompletním pevným fixováním biocidního polymeru [70, 71]. Antimikrobiální efekt těchto materiálů je vysvětlován tak, že kladný náboj části biocidního aditiva interaguje s negativně nabitou buněčnou membránou, dochází následně k inhibici proteosyntézy a vzniku intracelulárních shluků, které vedou k zániku bakteriální buňky [72, 73].

Je známo, že v mnoha případech tvar povrchu biocidního substrátu silně ovlivňuje jeho aktivitu. Ovlivnění biocidní aktivity bylo publikováno u sol-gel vrstev obsahujících kvarterní amoniové sloučeniny [74]. Velice významným biocidem je stříbro a další kovy. Doposud bylo popsáno mnoho různých metod, zabývajících se přípravou nanovrstev modifikovaných stříbrem [75-79]. Nanočástice kovového stříbra [80, 81] nebo stříbra [82], případně kovových oxidů (ZnO), efektivně ničí mikroorganismy. Bavlna nebo polyester, které byly ošetřeny nanočásticemi stříbra, údajně vykazují excelentní antimikrobiální efekt proti G<sup>+</sup> a především G<sup>-</sup> bakteriím. Jak uvádí studie Lee a kol., množství Ag<sup>+</sup> iontů již od 0,006 do 0,5 ppm efektivně zabraňuje bakteriálnímu růstu [83]. U textilních aplikací je důležitý způsob uvolňování Ag<sup>+</sup> iontů. Rychlé uvolňování může způsobit iritaci pokožky a snižovat životnost produktů. Rychlost uvolňování je tedy velmi důležitou vlastností, která se sleduje i při procesu praní (stabilita při pracích cyklech).

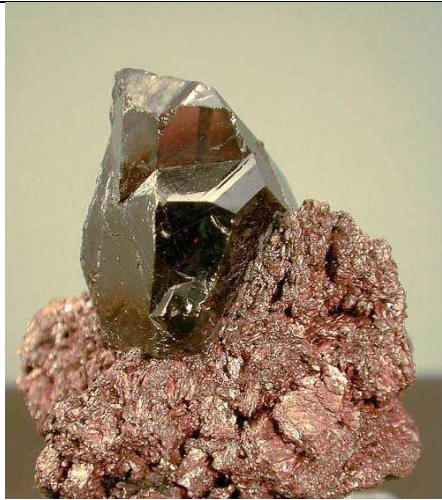


### ***3.2. Současný stav problematiky***

#### **3.2.1. Oxid titaničitý – charakteristika a význam**

V současné době se jeví jako jedno z velmi perspektivních řešení pro ochranné povlaky použití oxidu titaničitého (TiO<sub>2</sub>) ve formě prášku, zabudovaného do porézních kompozitních vrstev nebo použití nanočástic oxidu titaničitého na různé materiály.

Oxid titaničitý je velmi stabilní sloučenina, vyskytující se v krystalickém stavu ve třech krystalových modifikacích, kterým odpovídají tři různé minerály: rutil, anatas a brookit (obr. 6).



		
<i>Přírodní podoba rutilu [84]</i>	<i>Přírodní podoba anatasu [85]</i>	<i>Přírodní podoba brookitu [86]</i>

Obr. 6 - Krystalové modifikace oxidu titaničitého [84, 85, 86].

První dvě tetragonální struktury (rutilová a anatasová) jsou běžnější a lze je snadno vyrobit, naproti tomu brookit, který má ortorombickou krystalickou strukturu, se v průmyslových produktech nevyskytuje. Rutilový typ se používá převážně v průmyslových výrobcích (např. barvy). Anatas vykazuje obvykle vyšší fotoaktivitu než rutil. Oxid titaničitý se často používá jako pigment. Důvodem je jeho výrazný jas a velmi vysoký index lomu ( $n = 2,7$ ).  $\text{TiO}_2$  pohlcuje UV záření a přeměňuje jej na neškodné teplo. V práškové formě výrazně rozptyluje světlo a má vysokou opacitu. Jako pigment zajišťuje bělost a neprůhlednost barev, povlaků, plastů, papíru, inkoustů, potravin, kosmetiky a léčiv (např. tablet, či zubních past) [87, 88].

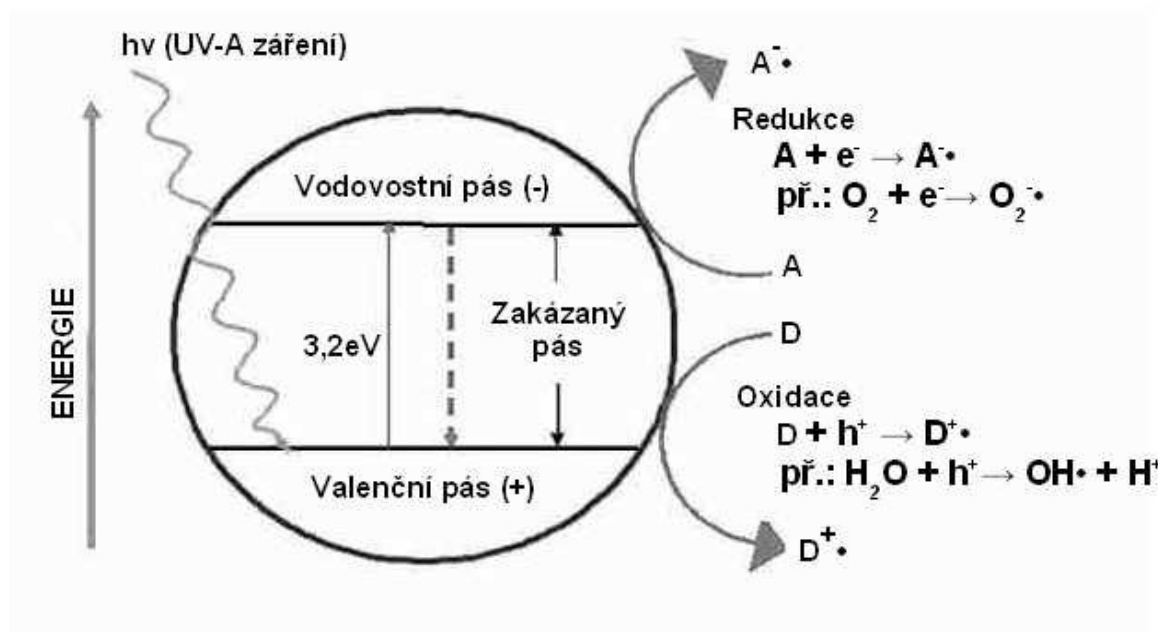
$\text{TiO}_2$  je jeden z nejvíce povrchově fotokatalyticky aktivních materiálů mající vysokou fotokatalytickou aktivitu, silné oxidační schopnosti a dlouhodobou stabilitu [89, 90, 91]. Chemická katalýza je změna rychlosti chemické reakce způsobená látkami, které se reakcí chemicky nezmění. Katalyzátor se během reakce nespotřebovává, účastní se tvorby nestálých meziproduktů, které se dále rozpadají za vzniku produktu a katalyzátoru.

Různé typy fotokatalytických materiálů na bázi ( $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZnO}$ ,  $\text{CdS}$  a  $\text{ZnS}$ ) byly široce studovány již od roku 1972 Fujishimou a Hondou [92].

$\text{TiO}_2$  může generovat silnou oxidaci, po osvětlení UV zářením s vlnovou délkou menší než 365 nm. Fotonovou energii generuje pár elektron díra na  $\text{TiO}_2$  povrchu [93, 94]. Díra ve skupině valence pak může reagovat s vodou nebo ionty  $\text{OH}^-$  adsorbovanými na povrchu a produkovat hydroxylové radikály ( $\text{OH}^\bullet$ ). Elektrony v pásu vodivosti mohou redukovat  $\text{O}_2$  a produkovat ionty ( $\text{O}_2^-$ ).

Na obr. 7 je zobrazen princip fotokatalýzy  $\text{TiO}_2$ . Předpokládá se, že probíhá v těchto základních krocích:

1. Absorpce UV-A záření s vlnovou délkou menší než 388 nm
2. Excitace elektronů z valenčního do vodivostního elektronového energetického pásu přes zakázaný pás 3,2 eV
3. Vznik párů elektron-díra
4. Reakce elektronů s akceptory elektronů a redukce této látky (především s molekulami kyslíku za vzniku superoxidových aniontů ( $\bullet\text{O}_2^-$ ))
5. Reakce „děr“ s donory elektronů a oxidace této látky (především s molekulami vody za vzniku hydroxylových radikálů ( $\bullet\text{OH}$ ))
6. Reakce silně reakčních produktů – radikálů – s organickými látkami a mikroorganismy
7. Rozklad organických látek a mikroorganismů



Obr. 7 - Princip  $\text{TiO}_2$  fotokatalýzy [ 9 5 ]

Je známo použití  $\text{TiO}_2$  jako fotokatalyzátoru pro rozklad organických sloučenin, mikroorganismů, virů nebo nádorových buněk [96], jakož i jeho potenciální využití pro sterilizaci zdravotnických prostředků, potravin, čištění povrchu, vzduchu (klimatizace filtry) a sanitárních ploch [97, 98, 99].

V literatuře je popsáno mnoho způsobů fixace oxidu titaničitého. Jedná se o sol-gel metody [100, 101, 102], metody naprašování [103, 104, 105], další možností je depozice oxidu titaničitého pomocí iontového svazku – IBAD [106], fixace chemickou depozicí CVD [107-112] nebo plazmochemická depozice z plynné fáze [113-115].

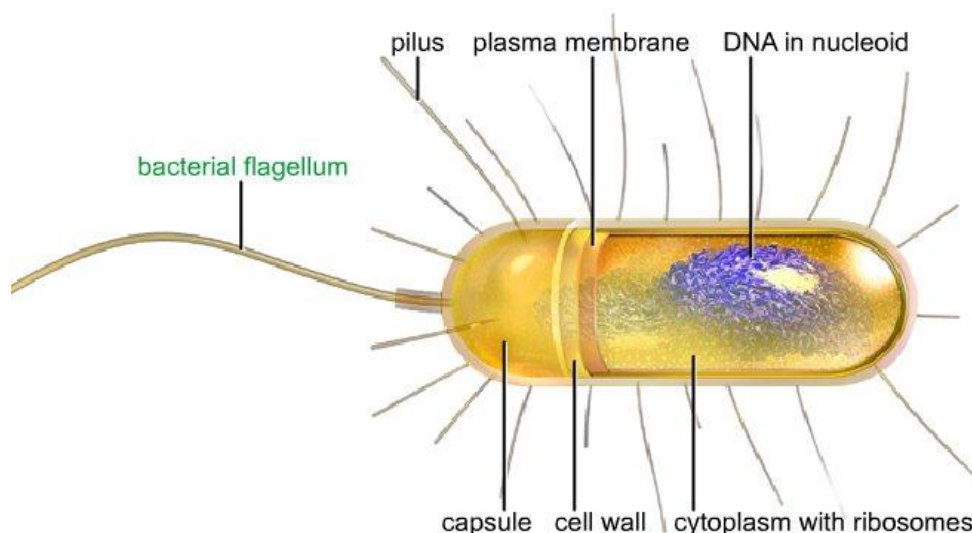
Výhodou všech fotokatalyzátorů, včetně oxidu titaničitého, jsou antibakteriální schopnosti [116, 117], biokompatibilita [118] a samočistící funkce [119], které spočívají v jejich šetrnosti k životnímu prostředí, sebe-regeneraci a dlouhé trvanlivosti. Matsunaga a kol. již v roce 1985 publikovali studii o schopnosti fotokatalyzátorů usmrctvat bakterie. Jednalo se o první zprávu, která informovala o antibakteriálních účincích fotokatalyzátorů [120, 121].

### **3.2.2. Účinky $\text{TiO}_2$ ve formě vrstev**

Fotokatalytické a antibakteriální účinky vrstev  $\text{TiO}_2$  byly studovány v rozsáhlé studii Chi-Jen Chunga a Chung-Chein Chianga [122]. V této studii bylo prokázáno, že uvedená vrstva  $\text{TiO}_2$  je netoxická, vykazuje vysokou katalytickou aktivitu a silné tzv. samočistící schopnosti. Příčinou samočištění  $\text{TiO}_2$  vrstev je jemně nanostrukturovaný povrch, na němž se neudrží částice nečistot, které jsou po ozáření strhávány kapkami vody. Nanopovlaky se v současnosti používají na skle nebo keramice, kde neulpívá špína, mastnota, vodní kámen ani otisky prstů. Primárním využitím jsou speciální obkladové materiály a dlaždice, dále sanitární keramika a skla sprechovacích koutů [123]. Skupině Chunga a Chianga se podařilo vytvořit  $\text{TiO}_2$  vrstvu s antibakteriálními účinky a uspokojivými mechanickými vlastnostmi.

#### **3.2.2.1. Princip antibakteriálního fotokatalytického účinku $\text{TiO}_2$ vrstev**

Jak již bylo uvedeno výše, antibakteriální fotokatalytický účinek  $\text{TiO}_2$  vrstev spočívá v ozáření vrstvy s oxidem titaničitým pomocí UV záření. Principem je pohlcení UV záření (nejúčinnější je UV záření s vlnovou délkou nižší než 365 nm) oxidem titaničitým, který UV záření přemění na neškodné teplo. Ozářením vzniklé hydroxylové radikály jsou velmi silné antioxidanty a likvidují koenzymy a enzymy v dýchacím řetězci mitochondrie nebo přímo inhibují replikaci DNA bakterie (obr. 8). Výsledkem je zamezení množení bakterií, tedy nastává bakteriostatický efekt.



Obr. 8 - Stavba bakteriální buňky [124].

Obecně volné radikály jsou atomy nebo sloučeniny charakteristické tím, že obsahují jeden nebo více volných elektronů. To z nich činí látky agresivní, které v živém organismu (buňce) vychytávají jiné molekuly, se kterými interagují. Atakují tak buněčné membrány, deaktivují některé důležité enzymy a zhoršují fyziologické funkce buňky. Za normálního stavu je tvorba volných radikálů pod kontrolou antioxidačního systému, jehož důležitými složkami jsou přirozené antioxidační enzymy superoxid dismutáza, glutathion peroxidáza a dále vitamin E. [125-128].

Antibakteriální efekt fotokatalyticky aktivních  $\text{TiO}_2$  vrstev byl studován také na textilních substrátech a nanovlákních, které by se měly uplatnit jako obvazový materiál čistící hnisavé a těžce se hojící rány [129 - 134].

### 3.2.3. Účinky $\text{TiO}_2$ ve formě nanočástic

Fotokatalytické a antibakteriální vlastnosti nanočástic oxidu titaničitého jsou již delší dobu známy, jejich praktické využití však naráží na některé problémy. Jedním z hlavních problémů je jejich stabilní imobilizace na vhodné substráty bez ztráty fotokatalytických a antibakteriálních vlastností. Klasické nátěrové systémy na organické bázi jsou většinou fotokatalytickým působením rozrušovány a dochází k uvolňování nanočástic oxidu titaničitého. Fotokatalýze odolné anorganické systémy (např. vrstva oxidu křemičitého připravená metodou sol-gel) zase působí snížení fotokatalytické aktivity nebo špatnou mechanickou odolnost [135].

Fotokatalytické vrstvy oxidu titaničitého připravené metodou CVD jsou výrobně drahé, často křehké a obtížně aplikovatelné na předměty se složitějším tvarem.

Jedním z příkladů úspěšné aplikace nanočástic  $\text{TiO}_2$  jsou nano-anatasové  $\text{TiO}_2$  prášky, které mají poměrně vysoké specifické plochy a jsou tedy často používány k odstranění organických látek z vody [121].

### **3.2.4. Příprava hybridních a nanokompozitních vrstev metodou sol-gel**

Jak již bylo uvedeno, způsobů fixace oxidu titaničitého je několik. Tyto metody jsou různě náročné, ale pro praktické aplikace je primárním hlediskem cena metody. Z tohoto důvodu se mi jeví jako jedna z optimálních metoda sol-gel, které se primárně ve své práci věnuji.

#### **3.2.4.1. Základní charakteristika sol – gel metody**

Metody sol-gel lze stručně charakterizovat jako speciální proces výroby skla a keramiky při pokojové či mírně zvýšené teplotě. To je v přímém protikladu k tradičním metodám výroby skla a keramiky, využívajícím teplot často vysoce přes 1000 °C. Zvláště vzhledem k mnohostranným praktickým aplikacím se metody sol-gel staly samostatnou a velmi obsáhlou disciplínou, doloženou početnými literárními zdroji [136-140] a konferenčními příspěvky [141-143]. V roce 2003 byla založena „International Sol-Gel Society“ [144], sdružující všechny zájemce o tuto tematiku a spravující velmi obsáhlou databázi užitečných informací.

Počátek zájmu o metody sol-gel lze položit do první poloviny devatenáctého století, kdy Ebelmen a Graham roku 1845 publikovali své studie o silikagelu, jak je uvedeno v pracích například Hencha [141], Dimitrieva a kol. [145] nebo Jesenáka [146]. Moderní historie metod sol-gel spadá do období počátku 90. let 20. století. V tomto období nastal obrovský rozvoj metod přípravy organicko-anorganických hybridních materiálů [147]. Specialistům z Fraunhofer-Institut für Silicatforschung (ISC) ve Würzburgu se jako prvním podařilo připravit hybridní organicko-anorganický materiál pod názvem ORMOCER (Organically Modified CERamic) [148]. Podobným materiálem je také hybridní organicko-anorganické sklo ORMOSIL (Organically Modified SILicate) [149]. Od anorganických a hybridních materiálů vedla již přímá cesta k řadě důležitých výrobků a technologií jako jsou například skleněná a keramická vlákna, brusné prášky, nejrůznější vrstvy a povlaky [150].

Důvodem pro využití metod sol-gel je především vysoká čistota a homogenita produktů i podstatně nižší teplota používaná při výrobě. V posledních 20-30 letech jsme svědky



obrovského rozmachu této metody. Jedním z důvodů je nepochybně pokrok v samotné metodě sol-gel a hloubce jejího poznání. Tento fakt přímo souvisí s využitím pokročilých analytických metod jako je nukleární magnetická resonance (NMR), rozptyl rentgenových paprsků pod malým úhlem (Small-Angle X-ray Scattering SAXS), Ramanova spektroskopie, rentgenová fotoelektronová spektroskopie (XPS), diferenciální skenovací kalorimetrie (DSC), dielektrická relaxační spektroskopie (DRS) a řada dalších, které byly vyvinuty nebo rozvinuty v posledních třiceti letech.

Používaných metod sol-gel je vzhledem k jejich technologickému významu velké množství. Rychlá sol-gel technologie je definována jako metoda přípravy „silných tenkých“ vrstev (1  $\mu\text{m}$  až stovky  $\mu\text{m}$ ), které se při přípravě nesrážejí, nepraskají a obsahují málo residuální organické hmoty (okolo 20 %). Vlastní metoda je velmi rychlá (několik minut) s následným vytvrzením (tepelné – několik hodin, UV – několik minut). Vzniklý materiál má výborné optické a adhesivní vlastnosti, navíc je tepelně stálý. Vychází se ze směsi alkylalkoxysilanů a tradičních alkoxidů. V naprosté většině případů se pracuje v uzavřených nádobách bez přídavku alkoholu. Cílem je provést reakci všech použitých výchozích látek a odstranění většiny nežádoucích produktů (voda, alkoholy) před vytvořením gelu. Získaný materiál je stále „roztokem“, byť obsahujícím pouze okolo 4 % kapalné fáze. Výsledkem je viskózní pryskyřice, kterou lze dále zpracovat vytvrzením ve formách, nebo zředit a dlouhodobě skladovat [151]. Do stavu finálního výrobku se převede vytvrzením zvýšenou teplotou či UV zářením, čemuž může předcházet tvorba vrstev známými technikami (dip-coating a spin-coating). V principu lze takto připravit produkty s vlastnostmi plynule přecházejícími od silikonové pryže až ke klasickému sklu.

#### 3.2.4.2. *Pojmy sol a gel*

Sol je v podstatě tekutý koloidní roztok, který obsahuje homogenní dispergované částice koloidních rozměrů. Soly je možné připravit buď z hrubě disperzních suspenzí zmenšením částic tuhé látky, nebo reakcí dvou případně více pravých roztoků. U metod sol-gel se využívá druhého případu. Terminologicky se mohou lišit soly na základě toho, jaký typ kapaliny obsahují. V případě, že obsahují vodu, označují se jako hydrosoly, pokud obsahují organickou kapalinu, jedná se o organosoly. Soly jsou významným mezipřelánkem při přípravě mnohých důležitých látek a meziproduktem při přípravě gelu [152].

Gely jsou pevné elastické látky tvořené kontinuální polymerní sítí, jež tvoří tuhou kostru gelu a kapalnou složkou, která je distribuovaná v pórech a kanálech, taktéž vytvářejících

vzájemně propojený systém. Fyzikálně-chemické vlastnosti gelů jsou závislé nejen na chemické podstatě obou hlavních složek, ale i na jejich vzájemném hmotnostním, respektive objemovém poměru. Obsah tuhé složky může být vysoký, například nad 50 obj. %, v takovém případě gel může představovat látku s relativně dobrými mechanickými vlastnostmi. Na druhé straně, nízký obsah tuhé složky, například méně jak 10 obj. %, snižuje mechanickou odolnost gelu, ale zvyšuje jeho elasticitu [152].

### 3.2.4.3. Charakteristika organicko-anorganických hybridních materiálů

Hybridní materiály, které obsahují alkylalkoxysilany se často označují názvem ORMOSIL nebo ORMOCER. Vedle těchto dvou hlavních názvů literatura uvádí i další alternativní názvy CERAMERS (ceramic polymers) a POLYCERAMS (polymeric ceramic materials) stejně jako termín „hybridní anorganicko-organický materiál“ [153]. Významy všech těchto názvů se do jisté míry překrývají. ORMOSILy a ORMOCERy se někdy definují také jako organicko-anorganické hybridní kopolymery patřící do takzvané II. Třídy hybridních materiálů, u nichž jsou anorganické a organické segmenty spojeny pomocí kovalentních vazeb [154].

Tab. 2 - Příklady struktur prekurzorů (Typ I.-IV.) používaných pro syntézy čistě anorganických a hybridních materiálů (vrstev) [154].

Prekurzory			Prekurzory (Typ IV)
(Typ I)	(Typ II)		
Si-alkoxid	Al-alkoxid	Zr-alkoxid	3-Methakryloxypropylsilan
Prekurzory (Typ III)			
			Epoxysilan
Fenylsilan	Methylsilan		
			3-Aminopropylsilan
			Vinylsilan

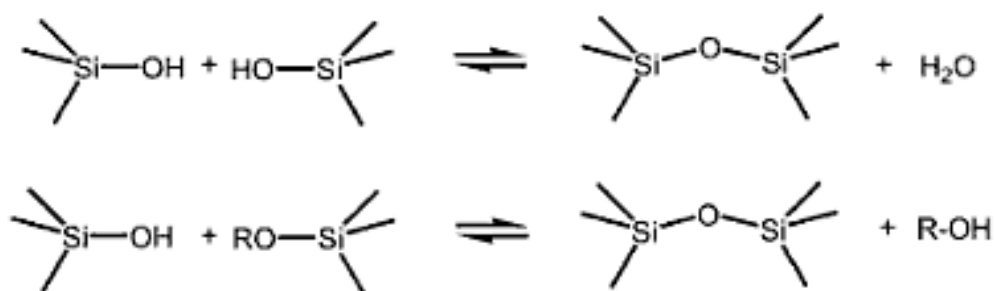
### 3.2.4.4. Příprava hybridních materiálů (vrstev)

Základními výchozími surovinami pro přípravu hybridních materiálů jsou alkylalkoxysilany, které ve svých molekulách obsahují jednak hydrolyzovatelné kovalentní vazby typu C-O-Si, tak proti hydrolýze stabilní kovalentní vazby typu Si-C. Proto vazby typu Si-C zůstávají zachovány při mírných podmínkách přípravy a tepelného zpracování i ve výsledném produktu. V silanech jsou na atomu křemíku celkem čtyři kovalentní vazby. Výchozí alkylalkoxysilany mohou vedle minimálně jedné hydrolyzovatelné alkoxy skupiny, která zajišťuje zapojení do anorganické sítě, obsahovat také jednu až tři organické skupiny s vazbou Si-C. Ty mohou být nereaktivní (typ III.) nebo reaktivní (typ IV). Nereaktivní skupiny modifikují svojí přítomností vlastnosti výsledného materiálu, aniž by podléhaly dalším reakcím. Až za drastických podmínek, např. za vysokých teplot, mohou být rozloženy [155, 156]. Na druhé straně, reaktivní skupiny jsou schopny dalších specifických reakcí, například vázat organické molekuly (barviva) či jiné částice (nanočástice různých oxidů) prostřednictvím reakcí s jejich funkčními skupinami [156]. Nejdůležitější vlastností reaktivních organických skupin je však schopnost zapojení do polymerizačních nebo polykondenzačních reakcí za vzniku komplementární organické polymerní sítě.

Prvním krokem přípravy hybridních materiálů sol-gel metodou je obecně utváření základu anorganické sítě řízenou hydrolýzou vazeb C-O-Si (obr. 9), a současně probíhající polykondenzací skupin Si-O-H a Si-O-R (R= alkyl) (obr. 10), což je shodné s klasickými anorganickými metodami sol-gel. Pro hydrolýzu je velmi důležitý molární poměr vody a alkylalkoxysilanu  $k = [\text{H}_2\text{O}]/[\text{Si}(\text{OR})_4]$ . Hodnota  $k$  se pohybuje v rozmezí 1 až 4 [152].



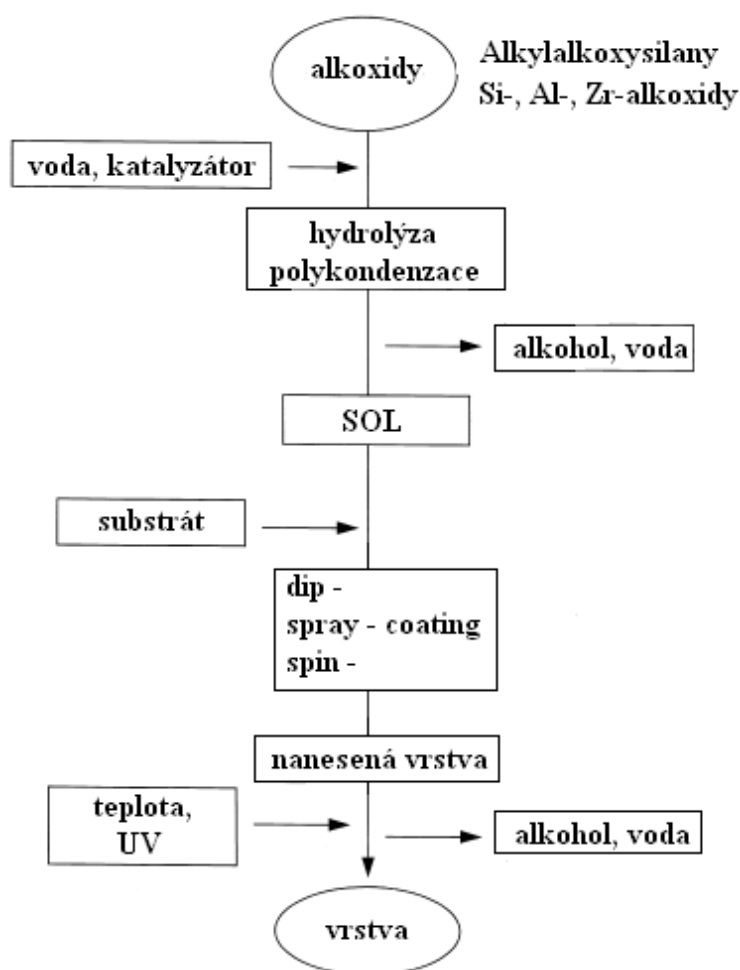
Obr. 9 - Schéma hydrolýzy alkylalkoxysilanu za vzniku alkoholu [156].



Obr. 10 - Schéma dvou typů polykondenzace hydrolyzovaného alkylalkoxysilanu za vzniku vedlejších produktů vody nebo alkoholu [156].



Vlivem hydrolytických a polykondenzačních reakcí různých hydroxyderivátů výchozího alkylalkoxysilanu velmi rychle stoupá počet typů vznikajících molekul, tím se zároveň zvyšuje i počet možných reakcí. Chemickým složením reakční směsi a změnou podmínek (teplota, druh alkoxyskupiny v alkylalkoxysilanu, molární poměr **k**, rozpouštědlo, typ a koncentrace kyselého, nebo zásaditého katalyzátoru) je možné řídit velikost a tvar vznikajících makromolekul, tím se zároveň řídí vlastnosti solu i výsledného produktu. V některých případech přípravy hybridních materiálů probíhá převážně organické zesíťení jako druhá časově oddělená fáze syntézy. Pro získání vysoce kvalitních hybridních materiálů s propojenými 3D sítěmi je však obvykle nutné, aby vznik obou sítí (anorganické i organické) probíhal do určité míry současně. Jinak může dojít k výraznému sterickému bránění vzniku organické sítě, která obvykle vzniká jako druhá za drastičtějších podmínek. Mnohdy se tato fáze nazývá vytvrzení hybridních materiálů a obvykle se provádí tepelně v rozmezí 80 až 200 °C, UV zářením, redoxní nebo radikálovou iniciací [152, 157].



Obr. 11 - Schéma přípravy anorganických nebo hybridních materiálů (vrstev), v závislosti na použitém prekurzoru, pomocí metody sol-gel [158 ].

### **3.2.4.5. Další způsoby přípravy hybridních vrstev metodami sol-gel**

V literatuře je popsána celá řada dalších příprav hybridních a nanokompozitních hybridních vrstev na bázi oxidu titaničitého a křemičitého pomocí sol-gel metody. Franc a kol. připravili organicko-anorganické nanokompozitní vrstvy na bázi  $\text{TiO}_2 - \text{SiO}_2$  metodou sol-gel s UV fotopolymeryzací organické sítě [159]. Přehledné a základní schéma přípravy anorganických nebo hybridních vrstev vystihuje obr. 11. Wang a kol. studovali terciální nanokompozity na bázi polymethylmethakrylátu  $\text{PMMA-SiO}_2\text{-TiO}_2$  připravené pomocí nových bezhydrolytických sol-gel metod [160]. Velikost nanokompozitních částic oxidů titaničitého a křemičitého se pohybovala v rozmezí 60-70 nm. Nanočástice byly velmi dobře rozptýleny v PMMA matici. Podařilo se prokázat, že anorganické částice mohou vázat radikály, vznikající jejich tepelnou degradací. Que a kol. studovali teplotu a rychlost ohřevu hybridních nanokompozitních materiálů na bázi oxidu křemičitého a titaničitého metodou sol-gel [161]. Tepelná stabilita hybridních vrstev se zvyšuje s rostoucím množstvím organicko-anorganických prekurzorů v jejich sítích [162]. Necula a kol. popisuje přípravu porézní kompozitní  $\text{TiO}_2\text{-Ag}$  vrstvy a posouzení její baktericidní aktivity proti bakteriálnímu kmenu MRSA [163]. Kompozitní vrstvy prokázaly 100% inhibici bakteriálního kmene MRSA do 24 hodin, zatímco u vzorků pouze s Ti a vzorků oxidovaných bez Ag nanočástic bylo zaznamenáno 1000 násobné zvýšení počtu bakteriálních kolonií.

Antibakteriální schopnosti stříbra a jeho sloučenin jsou dobře známy. Kovové stříbro a stříbrné soly byly použity jako baktericidní látky v polymerech, kde byly fixovány ze solů stříbra, nebo přímo jako kovové stříbrné vrstvy [163, 164]. Při používání stříbra byla objevena určitá omezení, jako je rušivý efekt solí Ag, případně hromadění kovového stříbra nebo nemožnost trvale uvolňovat dost vysokou koncentraci Ag iontů [165]. Tato omezení lze překonat použitím Ag nanočástic. Ag nanočástice mají výhody vysokého měrného povrchu, vysoký podíl povrchových atomů a vysokou antibakteriální účinnost, kationty stříbra však mají účinnost mnohem vyšší [166, 167]. Synergické efekty iontů stříbra a dalších iontů kovů (ionty mědi a zinku) s antibakteriálními vlastnostmi jsou v současné době intenzivně studovány [168].

## 4. Experimenty – příprava bioaktivních vrstev

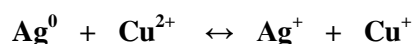
Na základě současných poznatků o metodě sol-gel, byly na katedře chemie TU v Liberci připraveny organicko-anorganické soly a z nich hybridní vrstvy na bázi TMSPM (3-(trimethoxysilyl)propyl methakrylát) - TEOS (tetraethoxysilan) a MMA (methylmethakrylát) metodou sol-gel. Po nanesení těchto solů na různé substráty (skla, plasty, kovy a textilie) byly vrstvy tepelně zpracovávány při teplotě 90 °C radikálovou polymerizací s BPO (dibenzoylperoxid) nebo tepelnou polymerizací při teplotě 150 °C. Vlastnosti připravených solů a vrstev byly sledovány a hodnoceny pomocí IR spektroskopie, AFM, SEM a optické mikroskopie. U hybridních vrstev byly stanoveny indexy lomu, tloušťka, oděruvzdornost a chemická odolnost. Pomocí dusíkové adsorpce bylo potvrzeno, že připravené hybridní vrstvy obsahují mezopóry, které omezují jejich použití v podobě antikoročních vrstev na kovy [169].

Dále byly připraveny nanokompozitní hybridní vrstvy s imobilizovanými nanočásticemi oxidu titaničitého. U těchto vrstev byla stanovena odolnost proti oděru a fotokatalytická aktivita. Dále byla provedena rozsáhlá bakteriologická studie. Zjištěné výrazné antibakteriální účinky připravených vrstev nabízí velmi perspektivní možnost aplikačního využití vrstev v podobě antibakteriálních povlaků na různé substráty a materiály v nemocničních nebo v sociálních zařízeních. Vrstvy efektivně působí proti různým druhům bakteriálních kmenů, zejména pak proti velice nebezpečnému celosvětově rozšířenému patogennímu bakteriálnímu kmeni MRSA (Methycilin Rezistentní Staphylococcus Aureus).

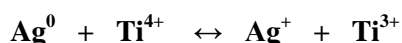
Na základě zkušeností s přípravou různých typů solů jsme na katedře chemie TU v Liberci připravili typ solu s primárním použitím jako antibakteriální vrstva proti MRSA a dalším patogenním bakteriálním kmenům. Postup přípravy byl patentován [170]. Výchozí sol byl připraven modifikovanou metodou sol-gel založenou na rozpuštění trialkoxysilylpropoxymethylmethakrylátu (nebo trimethoxysilylpropoxymethyl methakrylátu TMSPM) a alkoxyditanu (nebo tetraizopropyltitanátu IPTI) s přidavkem dusičnanů stříbra a mědi. K solu byl přidán radikálový katalyzátor polymerizace (dibenzoylperoxidem BPO) ve vhodném alkoholu (ethanol nebo izopropylalkohol) a kyselina dusičná s vodou. Bylo zjištěno, že lze do hotového solu přidat nanočástice fotokatalyticky aktivního oxidu titaničitého. Připravený sol byl nanesen na povrchy substrátů, které byly určeny pro antibakteriální úpravu ve formě vrstvy (vytažením, odstředěním nebo nastříkáním) a po odpaření rozpouštědla byla vzniklá vrstva tepelně zpracována dle substrátu při teplotě 80 až 150 °C po dobu 30 min až 6 hod. Teplota tepelného zpracování je dána teplotní odolností použitého substrátu (například

pro polypropylen 80 °C, odolné substráty 150 °C). Tímto tepelným zpracováním byla připravena mírně porézní anorganicko-organická hybridní vrstva s imobilizovaným stříbrem a mědí (ve formě iontů) nebo nanočástic oxidu titaničitého. Porozita připravené vrstvy je velmi důležitou vlastností pro funkčnost (antibakteriální vlastnosti), protože v případě úplného uzavření částic stříbra a mědi nebo nanočástic oxidu titaničitého by vrstva byla antibakteriálně prakticky neaktivní nebo by antibakteriální aktivita byla nízká.

Jak bylo experimentálně zjištěno, přidavek dusičnanů stříbra a mědi do hybridní vrstvy velmi výrazně zvyšuje její antibakteriální vlastnosti. Jedná se o synergický efekt, který je pravděpodobně způsoben existencí oxidačně redukčních rovnováh se sloučeninami Ag, v jejichž důsledku je v hybridní vrstvě udržován obsah kationtu  $\text{Ag}^+$ :



případně



Přítomnost Ti ve struktuře hybridní vrstvy také dovoluje přenos náboje mezi nesousedícími kationty podle první z uvedených rovnic. Atomy Si vzhledem k hodnotě oxidačně redukčního potenciálu  $\text{Si}^{4+}/\text{Si}^{2+}$  tuto schopnost nemají. Uvedenou skutečnost zároveň potvrzuje i nejnovější publikace zabývající se danou problematikou [171]. Tzv. synergický efekt byl také na katedře chemie TU v Liberci potvrzen rozsáhlou studií a některé výsledky byly již publikovány [134].

Účinky stříbra a mědi jsou historicky známé a vyzkoušené. Stříbrné a měděné předměty se vhazovaly do studní nebo vkládaly do nádob s pitnou vodou (od dob Hypocrata – 400 l. př. n. l.). Vědělo se, že tyto kovy mají schopnost usmrcovat mikroorganismy, které způsobovaly závažná až smrtelná onemocnění. Stříbro je široce používaný a uznávaný biocidní prostředek, který je účinný proti bakteriím, plísním, houbám a virům. Jeho velkou výhodou a tedy možností použití je jeho netoxičnost pro lidské buňky. Měď v kontaktu s mikroorganismy vede k narušení jejich buněčné stěny, což je příčinou smrti těchto organismů. Měď a její sloučeniny mohou být použity v různých lékařských a nelékařských zdravotnických oborech. Jednou z možností jejího využití je při konstrukci filtrů, které se uplatní během filtračního procesu vody [88, 172] nebo vzduchu. Tomuto problému se věnuji v rámci řešeného projektu NanoKlima a Aerofil, kde je mým primárním úkolem navrhnout a imobilizovat vhodné látky s antibakteriálním účinkem pro vzduchový filtr.

## **4.1. *Bioaktivní nanokompozitní hybridní a hybridní vrstvy***

### **4.1.1. Typy nanočástic použité pro přípravu nanokompozitních vrstev**

Nanokompozitní hybridní vrstvy jsme připravili s několika typy nanočástic  $\text{TiO}_2$ . Prvním testovaným typem byly nanočástice Degussa P25, které jsou standardním materiálem vyráběným firmou Nippon Aerosil v licenci německé společnosti Degussa. Jedná se o směs 70 % anatasu a 30 % rutilu s průměrnou velikostí nanočástic anatasu a rutilu 85 a 25 nm [173]. Měrný povrch vzorku Degussa P25 je  $57 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  (měřeno metodou BET z adsorpce dusíku, Autosorb IQ-MP). Vzorek nanočástic Degussa P25 nám poskytl KMT FS TU v Liberci. Další čtyři typy nanočástic byly získány z KTC FT TU v Liberci. Jedná se o nanočástice české výroby (firma Precheza a.s., Přerov), jejich bližší specifikace je uvedena v tabulce 3.

Soly pro přípravu nanokompozitních hybridních vrstev jsme připravili navážením vypočteného příslušného množství nanočástic do hybridního solu a jejich intenzivním rozptýlením pomocí ultrazvuku. Vrstvy byly na substráty nanášeny metodami dip-coating (rychlost tažení  $15 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$ ) nebo spin-coating (rychlost 3000 otáček za minutu). Připravené vzorky vrstev byly volně ponechány na vzduchu k odpaření rozpouštědla a dokončení hydrolýzy po dobu 45 minut, poté byly vloženy do sušárny při 80 °C, 90 °C, 100 °C nebo 150 °C po dobu 3 hodin k dokončení polymerizace (teplota tepelného zpracování byla volena podle teplotní odolnosti substrátu).

Tab. 3 - Specifikace nanočástic  $\text{TiO}_2$  firmy Precheza [173].

Firemní označení	Interní označení	Charakteristika nanočástic	Poměr anatasu a rutilu	Měrný povrch BET [ $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ ]
PK-10	Precheza A	ČTC AP 100908/2, nominální průměr 10 nm	anatas > 87,5 % rutil < 3 %	250 až 350
PK-20	Precheza B	ČTC AP 100908/3, nominální průměr 20 nm	anatas > 92,5 % rutil < 3 %	70 až 110
PK-180	Precheza C	ČTC AP 100908/5, nominální průměr 180 nm	anatas > 99,0 % rutil < 1 %	10 až 13
PK-60	Precheza D	ČTC AP 100908/4, nominální průměr 60 nm	anatas > 97,5 % rutil < 2,5 %	20 až 30

#### 4.1.2. Nové typy bioaktivních hybridních vrstev

Protože přípravě popisovaných vrstev přecházela celá řada pokusů, byly vrstvy postupně značeny. V této práci se věnuji primárně dvěma posledním typům vrstev, které nesou označení AD 7 a AD 9. Tyto vrstvy se liší svým složením, které uvádím v tabulce (tab. 4).

##### 4.1.2.1. Syntéza solí pro bioaktivní hybridní vrstvy

Všechny soly byly připravovány následujícím obecným způsobem. Vypočítané množství  $\text{AgNO}_3$  bylo rozmícháno v polovině vypočítaného množství IPA. Směs byla míchána při pokojové teplotě až do úplného rozpuštění  $\text{AgNO}_3$  (cca 1h). Poté byla vypočítaná množství prekurzorů TEOS, TMSPM, MMA přidána injekčními jehlami přes septum do baňky naplněné syntetickým vzduchem. Následně byl ještě rychle do baňky přesypán katalyzátor radikálové polymerizace BPO. Směs všech uvedených komponent byla míchána elektromagnetickým poteflonovaným míchadlem cca 30 minut. Po této době byl do roztoku za stálého míchání při zvýšených otáčkách přidán roztok zvolené kyseliny, deionizované vody, dusičnanů měďnatého a zinečnatého ve zbylé polovině IPA. Celá směs byla opět 30

minut míchána při pokojové teplotě (řízená hydrolyza vazeb C-O-Si a zároveň částečná polykondenzace vazeb Si-OH a Si-O-alkyl). Po této době byl do reakční směsi přidán IPTI (isopropoxid titanu) a opět vše důkladně mícháno po dobu 30 minut.

Nakonec byla provedena předpolymerizace při zvýšené teplotě. Sol byl udržován za varu pod zpětným chladičem na olejové lázni o teplotě 95 – 99 °C po dobu 30 minut. Po této době byl sol ochlazen, aby se pozastavila polymerizace a uskladněn v polyethylenové lahvičce na tmavém místě. Experimentálně bylo pomocí FTIR spektroskopie ověřeno, že doba životnosti BPO v solu byla cca 3 týdny (po více než třech týdnech již nebylo možné ze solu připravit kvalitní vrstvy).

U vrstev jako výsledného produktu byl sol následně jednou z vybraných metod obr. 12 nanesen na substrát a převeden na gel částečným odpařením rozpouštědla a dokončením hydrolyzy a polykondenzace v důsledku působení vlhkosti z okolí. V závěrečné fázi přípravy došlo vlivem tepelného zpracování k úplnému odpaření rozpouštědla z hybridního materiálu (vrstvy) za vzniku xerogelu a dokončení polymerizace radikálovým mechanismem (90 - 100 °C) nebo tepelně (150 °C). Uvedené teploty jsou již výsledkem optimalizace přípravy solů, které jsou shrnuty v disertační práci Veroniky Zajícové [158].

#### **4.1.2.2. Bioaktivní vrstvy - nanášení a přehled materiálů, na které byly aplikovány**

Postup přípravy solu pro nanášení vrstev zahrnuje rozpuštění výchozích surovin (alkylalkoxysilanů) v bezvodém rozpouštědle (izopropylalkohol) za vzniku pravého roztoku. Hydrolyzačními a polykondenzačními reakcemi po přidavku vody a kyselého katalyzátoru (kyseliny) vznikl sol, který byl nanášen na substráty buď vytahováním (dip-coating), nebo odstředováním (spin-coating). Schéma obou metod je uvedeno na obrázku x.

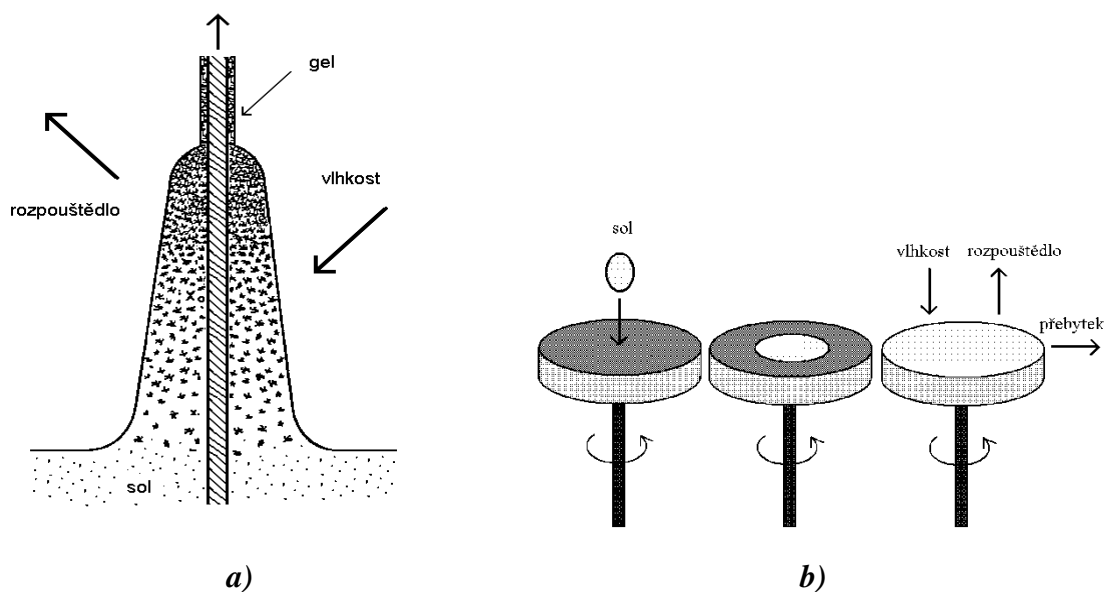
Metoda vytahování (dip-coating, obrázek 12a) je založena na pravidelném vytahování substrátu ze solu. Podle rychlosti tažení a dalších vlastností solu se výsledná tloušťka vrstvy pohybuje v rozmezí 15 až 400 nm. Každý systém (koncentrace solu, jeho chemické složení, konkrétní podmínky atd.) má určitou maximální hodnotu tloušťky vrstvy na jedno vytažení. Při větší tloušťce již dochází k odlupování nebo praskání vrstvy během přípravy. Zvětšení tloušťky vrstvy lze dosáhnout opakovaným procesem namočení, vytažení a tepelného zpracování [152].

Metoda odstředování (spin-coating, obrázek 12b) byla vyvinuta pro přípravu vrstev fotorezistů na substráty v mikroelektronice nebo pro přípravu vrstev na skla s rotační symetrií,



např. optické čočky. Tloušťka vrstvy se pohybuje od 15 do 300 nm opět v závislosti na rychlosti otáčení, poloze substrátu a dalších vlastnostech solu [152].

Pro nanášení vrstev vytahováním bylo použito komerční tažné zařízení firmy Microton s regulovanou rychlostí tažení v 8 krocích v rozmezí  $1 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$  až  $20 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$ . Nanášení vrstev odstředováním bylo prováděno na zařízení vyrobeném na TUL, jehož základem je elektrický motorek s rychlostí 3000 otáček za minutu.



Obr. 12: Schéma metod přípravy vrstev: a) vytahování (dip-coating),  
b) odstředování (spin-coating) [152].

Připravené soly byly nanášeny na laboratorní podložní skla značky Marienfeld o rozměrech 76 x 26 x 1 mm ze zásob KCH FP TU v Liberci. Dalším substrátem byly destičky z polymethylmethakrylátu (PMMA), dodavatel Isolit – Bravo, Jablonné nad Orlicí a keramika (dlaždičky), standardní materiál používaný k obkladům stěn. Jako textilní substrát byla zvolena 100% bavlna Sara a směsový materiál bavlna + polyester (35% : 65%). Tento materiál byl poskytnut KTC FT TU v Liberci.

#### 4.1.2.3. Vytvrzení vrstev

Po nanesení solu na substrát bylo nutné ponechat primární vrstvu v mírně vlhkém laboratorním prostředí k odpaření zbylého rozpouštědla (IPA) a dále k absorpci vlhkosti z okolního prostředí. Tato vlhkost dokončí hydrolyzu zbývajících alkoksysilanových skupin. Následnými polykondenzačními reakcemi dojde ke vzniku gelu. Takto vytvořená vrstva je



však měkká a má nedostatečnou mechanickou odolnost, proto je nutné ji dodatečně tepelně zpracovat, aby došlo ke zhutnění anorganické křemičité sítě, zafixování hybridní vrstvy na podklad a k dokončení polymerizace organické (methylemethakrylátové) sítě. Pro dokončení polymerizace radikálovým mechanismem pomocí BPO byla experimentálně zjištěna optimální teplota 90 °C po dobu 3 hodin. Nižší i mírně vyšší teplota způsobovala nedostatečný stupeň polymerizace a špatnou adhezi hybridní vrstvy k substrátům.

Mechanicky kvalitnější hybridní vrstva byla získána teplotní polymerizací při 150 °C po dobu 3 hodin. Pro některé substráty (polypropylen a podobné plasty, některé syntetické textilie) je však tato teplota již příliš vysoká. Nižší teplota (například 130 °C) je pro tepelnou polymerizaci nedostatečná, naopak vyšší teploty (170 °C a výše) se projeví horší adhezí hybridní vrstvy na substrát a opět nemožností určení indexu lomu a tloušťky vrstvy z měření závislosti prostupu viditelného světla na vlnové délce. Dokončení polymerizace hybridních vrstev při teplotách 90 °C nebo 150 °C zajišťovalo vrstvám zahřátým následně na vyšší teploty (až 220 °C) stále dobrou adhezi k substrátům. Z experimentálních výsledků tedy vyplývá, že dokončení polymerizace hybridní vrstvy je možné buď převážně radikálovým mechanismem při 90 °C nebo tepelnou polymerizací při 150 °C.

Dalším možným způsobem polymerizace hybridních vrstev je fotopolymerizace, pomocí fotoiniciátoru, který se v příslušné koncentraci přimíchá do solu. Ten je následně pomocí metod dip-coatingu nebo spin-coatingu nanesen na příslušný substrát. Vlastní polymerizace je aktivována buď UV A zářením nebo běžným světlem. Rozdíl mezi těmito dvěma typy je v rychlosti dopolymerizování (vytvrzení) vrstvy, kdy UV A záření celý proces polymerizace urychluje až o několik hodin. Tento typ polymerizace je v současné době na KCH FP TU v Liberci testován.

#### 4.1.2.4. Značení vyvinutých typů vrstev

V následující tabulce 4 uvádím označení testovaných vrstev a jejich chemické složení. Pro úplnost jsou uvedeny substráty, na které byly vrstvy nanášeny a následně testovány.

Tab. 4 - Chemická charakteristika a označení testovaných vrstev

ONAČENÍ VRSTVY	CHEMICKÉ SLOŽENÍ VRSTVY	SUBSTRÁTY PRO NANÁŠENÍ VRSTEV
<b><u>AD 7</u></b>	TEOS, TMSPM, MMA, BPO, AgNO <sub>3</sub> , Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 3 H <sub>2</sub> O, IPTI	Sklo, keramika, PMMA, 100% bavlna, směšový materiál bavlna + polyester
<b><u>AD 9</u></b>	TEOS, TMSPM, MMA, BPO, AgNO <sub>3</sub> , Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 3 H <sub>2</sub> O, Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 6 H <sub>2</sub> O, IPTI	Sklo, keramika, PMMA, 100% bavlna, směšový materiál bavlna + polyester

#### 4.1.3. Testování vrstev

Během vývoje hybridních vrstev byl zjišťován poměr prekurzorů TEOS a TMSPM tak, aby připravené hybridní vrstvy vykazovaly dobré mechanické a chemické vlastnosti. V souvislosti s tím byla také zjištěna porozita připravovaných hybridních vrstev, jejich tloušťka a index lomu. Z hybridních vrstev kombinace TEOS a TMSPM byly následně vyvinuty antibakteriální hybridní vrstvy (označované jako AD 7 a AD 9). Nanesené antibakteriální vrstvy byly také testovány z hlediska jejich biologické účinnosti. Vlastnosti vrstev kombinace TEOS a TMSPM ze kterých se vycházelo, jsou uvedeny v následujících kapitolách (mechanické vlastnosti, stabilita a biologická účinnost).

##### 4.1.3.1. Mechanické a ostatní vlastnosti hybridních vrstev

Pomocí dusíkové adsorpce byla zjištěna distribuce velikosti pórů, které se vyskytují v hybridním materiálu. Rozsah průměrů pórů se pohybuje v rozmezí od 3 do 30 nm s maximem při 4 nm. Celkový objem pórů byl však velmi malý (1,2 mm<sup>3</sup>.g<sup>-1</sup>, do konečného objemu 1,4 mm<sup>3</sup>.g<sup>-1</sup> jedná se již o mezičásticové prostory) a byl na hranici měřitelnosti uvedenou metodou. Celkový měrný povrch (stanovený metodou multi-point BET) byl 1,4 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup>. Z výpočtu porozity metodou BJH byla stanovena (pro vlastní póry) hodnota 0,8 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup> a tak na vnější povrch vzorku zbývá 0,6 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup>. Kontrolní měření provedené pomocí adsorpce kryptonu poskytlo hodnotu měrného povrchu 1,58 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup> (stanovený metodou multi-point BET), což je téměř ve shodě s údajem získaným z adsorpce dusíku.

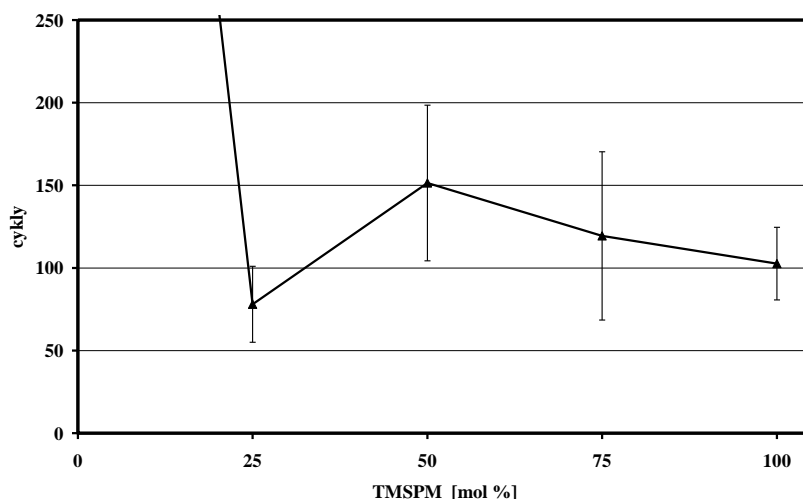
Pro stanovení indexu lomu a tloušťky vrstev z měření závislosti transmitance na vlnové délce světla UV/VIS spektrofotometrem byly použity hybridní vrstvy nanesené na optickém polykrystalickém korundu. Výsledky měření vlastností vrstev připravených ze solů na bázi TMSPM-TEOS tepelně zpracovaných při teplotách 90 a 150 °C/ 3 h jsou shrnuty v tabulce 5.

*Tab. 5 - Index lomu a tloušťka hybridních vrstev připravených ze solů na bázi TMSPM-TEOS katalyzovaných  $\text{HNO}_3$ .*

Obsah TMSPM [mol %]	90 °C/ 3 h		150 °C/ 3 h	
	n (500 nm)	Tloušťka [nm]	n (500 nm)	Tloušťka [nm]
<b>100</b>	1,480	178	1,496	154
<b>75</b>	1,474	174	1,486	144
<b>50</b>	1,468	179	1,479	143
<b>25</b>	1,466	165	1,473	138
<b>0</b>	1,427	150	1,429	145

Chemická odolnost hybridních vrstev, připravených ze solu TMSPM-TEOS nanesených na skleněné substráty a tepelně zpracované při 150 °C/ 3 h, byla testována proti různým organickým a anorganickým látkám. Odolnost hybridních vrstev byla po dobu 15 minut výborná proti organickým kapalinám (toluen, aceton, IPA). Při působení HF (1:1) nebo 25% vodného roztoku NaOH došlo přibližně za 15 minut k degradaci a praktickému rozpuštění vrstvy. Hybridní vrstva na skleněném substrátu byla minimálně 15 minut odolná vůči působení 96 %  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HNO}_3$  (1:1) nebo HCl (1:1).

Vrstvy série TMSPM-TEOS, nanesené na podložních sklech, byly podrobeny testům mechanické odolnosti (oděruvzdornosti). V první sérii byly orientačně proměřeny vzorky s vrstvami tepelně zpracovanými při 90 °C/ 3 h. Jak se však ukázalo, oděruvzdornost těchto vrstev byla velmi nízká (kolem 9 cyklů). Výrazně lepší výsledky byly zjištěny ve druhé sérii, ve které byly vzorky s vrstvami tepelně zpracovány při 150 °C/ 3 h. Výsledky pro vrstvy ze solů katalyzovaných  $\text{HNO}_3$  jsou uvedeny v grafu 1. Z průběhu závislosti počtu cyklů na složení solu (graf 1) je patrné, že při obsahu 0 až 50 % TEOS jsou hodnoty obdobné. Až u vrstev se 75 % TEOS je pozorovatelný pokles oděruvzdornosti, pravděpodobně způsobený nedostatečně propojenou organickou 3D sítí při současném narušení anorganické 3D sítě. Vrstvy tvořené pouze oxidem křemičitým získaným z TEOS jsou však vysoce odolné (více než 1000 cyklů).



*Graf 1 - Oděruvzdornost vrstev připravených ze solí série TMSPM - TEOS katalyzovaných  $\text{HNO}_3$  po tepelném zpracování při 150 °C/ 3 h (počet měření  $n = 5$ , chybová úsečka odpovídá hodnotě nejistoty průměru na úrovni 95 %, hodnota pro čistý TEOS je vyšší než 1000 cyklů).*

#### **4.1.3.2. Stabilita vrstev po opakované sterilizaci**

1) Vrstvy nanesené na různé typy pevných substrátů byly podrobeny opakované sterilizaci (sterilizováno teplým vzduchem 1 hod. při 130 °C u PMMA a 2 hod. při 95 °C u skla a keramiky). Stabilita vrstev byla hodnocena z hlediska biologické účinnosti (byly provedeny antibakteriální testy na vybrané spektrum bakteriálních patogenních kmenů). Výsledky jasně dokazují, že se antibakteriální efekt po opakovaných sterilizacích oproti původnímu vzorku (bez sterilizace) nesnižuje, ale zůstává stabilní. Testy byly prováděny za osvětlení UV A zářením i osvětlením běžným světlem

2) Vzorky s nanesenou hybridní vrstvou AD7 na textilním substrátu (bavlna) byly opakovaně vyprány [174] až do dosažení 50 pracích cyklů. Po předem určeném počtu pracích cyklů (1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 a 50 cyklů) byl odebrán vzorek tkaniny s hybridní vrstvou a rtg. fluorescenční analýzou stanoven relativní obsah jednotlivých iontů kovů (v porovnání se vzorkem bavlny s hybridní vrstvou po přípravě bez praní). Výsledky analýzy dokazují, že ke značnému poklesu obsahu sledovaných složek došlo během prvního pracího cyklu, kdy dochází k odstranění určitého množství hmoty hybridní vrstvy odrovené v místech styku jednotlivých vláken (kap. 4.2.4.2). Po dalších pracích cyklech dochází k poklesu sledovaných složek minimálně a textilie si zachovává antibakteriální aktivitu, která byla testována na vybraných patogenních bakteriálních kmenech.

#### 4.1.4. Biologická účinnost

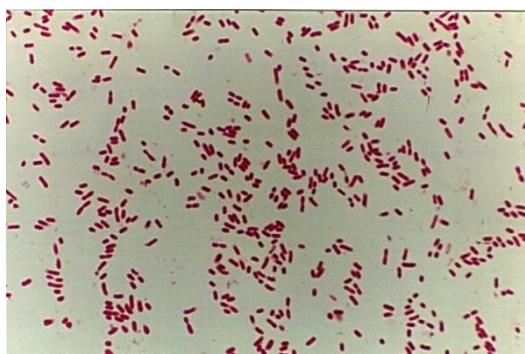
Biologická účinnost nanesených vrstev byla testována standardními bakteriologickými postupy podle mezinárodních norem a dle ČSN.

##### 4.1.4.1. Použité bakteriální kmeny

K bakteriologickým testům byly použity patogenní bakteriální kmeny, které činí velké problémy v současném zdravotnictví. Kolonizují zejména těžce se hojící rány (kap. 5. 2.), dále působí nozokomiální a urogenitální infekce. Použité bakteriální kmeny jsou referenční kultury mikroorganismů (dle ALE-G18, ČSNI), zakoupené z České sbírky mikroorganismů Masarykovy univerzity v Brně, třída nebezpečnosti 2.

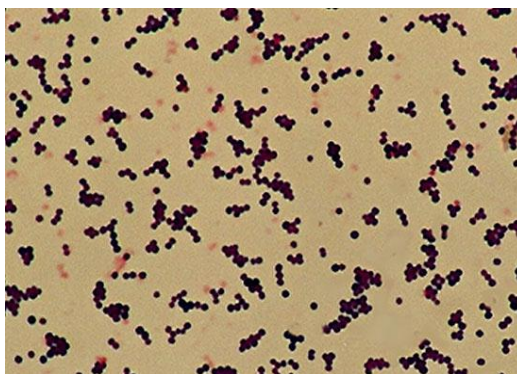
Jedním ze základních klasifikačních hledisek bakteriálních kmenů je barvení podle Grama. Barvení vychází z odlišného složení bakteriální buněčné stěny jednotlivých druhů bakterií. Touto metodou rozlišujeme gram pozitivní bakterie (G+), které mají pevnější buněčnou stěnu, a použitý barevný komplex krystalové violeti se nevyplavuje. Výsledkem je modré zbarvení nátěru bakterií (obr. 14). Gram negativní bakterie (G-) obsahují v buněčné stěně lipopolysacharidy, a proto při jejich odbarvování ethanolem dochází k vyplavení komplexu krystalové violeti, výsledkem je červené zbarvení nátěru bakterií (obr. 13).

- a) Escherichia coli (CCM 2024, ATCC 1260) je aerobní gram negativní tyčinkovitá bakterie, která je součástí střevní mikroflóry. Je producentem vitamínů K a B12. Jsou známé i patologické kmeny, které působí extraintestinální onemocnění (urogenitální záněty, kožní záněty, sepse), ale i intestinální onemocnění (infekce provázené průjmy - obr. 13).



Obr.13 - *E.coli* – Gramovo barvení [175].

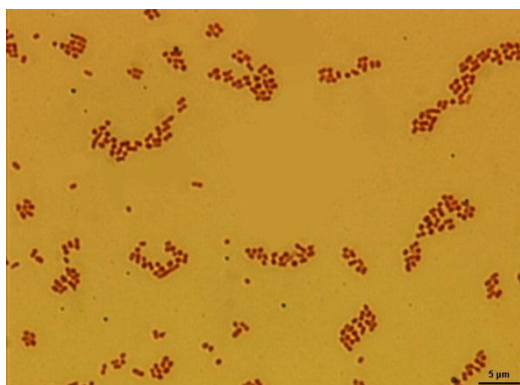
- b) Staphylococcus aureus (CCM 229, ATCC 9637) je fakultativně anaerobní gram pozitivní kokovitá bakterie. Je poměrně rezistentní, vydrží teplotu nad 55 °C/ 30 minut. Vyskytuje se zejména v nosní sliznici a na kůži. Je zodpovědná za celou škálu závažných onemocnění (abscesy, furunkulózy, meningitidy,...) (obr. 14).



Obr. 14 - *St. aureus* – Gramovo barvení [175].

- c) Acinetobacter baumannii (CCM 2265, ATCC 17978)

Jedná se o gram negativní aerobní tyčinkovitou bakterii, která působí kožní a nozokomiální infekce. Na tuto bakterii vzniká od roku 1986 (studie provedena 1986 – 2005) rezistence (např. rezistence na antibiotikum *imepen* stoupla v uvedených letech z 0% na 42%, na antibiotikum *ceftatidin* z 18% na 68% - obr. 15).



Obr. 15 - *Acinetobacter baumannii* [175].

- d) Pseudomonas aeruginosa (CCM 1959, ATCC 31480)

Je gram negativní tyčinkovitá aerobní bakterie, která vykazuje vysokou rezistenci k antibiotikům. U zdravých jedinců může v prostředí silně kontaminovaném pseudomonádami dojít k jejich kolonizaci. Bakterie se tak stává důležitým vektorem



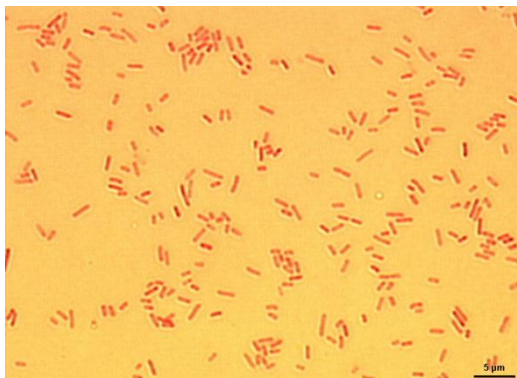
šíření nozokomiálních nákaz. Kolonizuje zejména sliznice dýchacího a močového ústrojí. Často se vyskytuje v nemocničním prostředí a kontaminuje právě katétrů, dýchací přístroje apod. (obr. 16).



Obr. 16 - *Pseudomonas aeruginosa* – Gramovo barvení [175].

e) Proteus vulgaris (CCM 1956, ATCC 29905)

Je gram negativní tyčinkovitá fakultativní bakterie, která vyvolává urogenitální infekce. Vyskytuje se jako sekundární součást těžce se hojících ran (dekubity, bérkové vředy, popáleniny), případně se vyskytuje při otitidách (obr. 17).



Obr. 17 - *Proteus vulgaris* – Gramovo barvení [175].

f) Proteus mirabilis (CCM 1944, ATCC 35659)

Jedná se o gram negativní fakultativní tyčinkovitou bakterii, která působí kožní infekce a infekce močových cest [176].



g) MRSA (CCM 4223, ATCC 33592)

Podrobná charakteristika bakteriálního kmene je uvedena v kapitole 3.

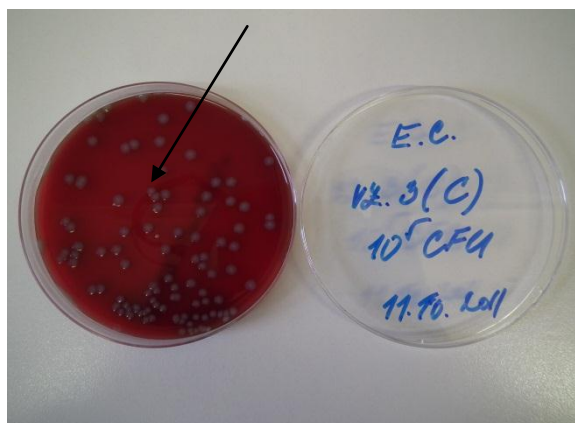
Pro kultivaci výše uvedených bakteriálních kmenů byl používán sterilní krevní agar (Columbia agar) od firmy BIO-RAD (ČR).

#### 4.1.4.2. Testování antibakteriální aktivity vrstev na textilních substrátech

Pro jednotlivé antibakteriální testy jsem používala standardní mezinárodní normy a českou normu, které vypovídají o antibakteriálním účinku testované textilie. Jedná se o následující normy:

a) AATCC Test Method: 100-2004- Antibacterial Finishes on Textile Materials

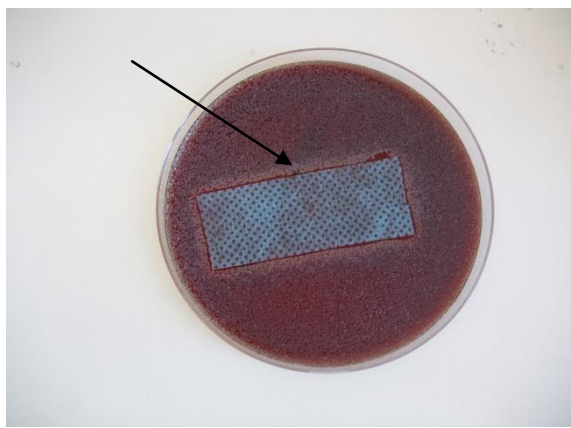
Touto metodou je hodnocen faktor redukce, který udává, o kolik procent došlo ke snížení inokulované koncentrace bakterií. Počítá se počet obnovených bakteriálních kolonií. Tato metoda má vysokou vypovídající hodnotu o antibakteriálním účinku testovaného materiálu. Z bakteriologického hlediska platí, že jedna bakteriální kolonie = jedna bakterie (obr. 18).



Obr. 18 – Příklad výsledku testu dle AATCC Test Method: 100-2004 (zdroj: Šlamborová)

b) AATCC Test Method: 147-2004-Antibacterial activity Assessment of textile materials

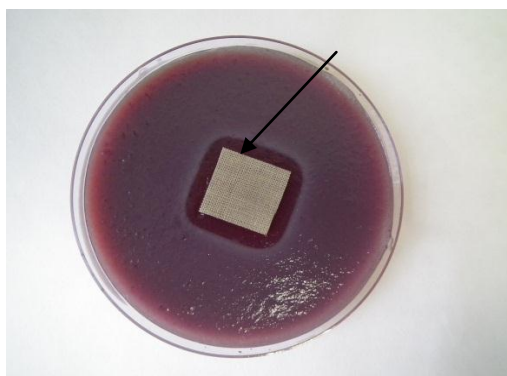
Jedná se o metodu orientační, u které se hodnotí velikost tzv. halo zóny, tedy oblasti okolo testovaného vzorku. Bakteriální inokulum je očkováno na krevní agar. Tato metoda by měla předcházet výše uvedené metodě (obr. 19).



Obr. 19 – Příklad výsledku testu dle AATCC Test Method: 147-2004 (zdroj: Šlamborová)

c) ČSN EN ISO 20654 - Plošné textilie – zjišťování antibakteriální aktivity – zkouška šíření agarovou destičkou

Zkouška je založena na principu difundování antibakteriálního přípravku z textilie do okolního prostředí. Bakteriální inokulum je přímo zaočkováno v agar. Hodnotí se velikost halo zóny (obr. 20).



Obr. 20 – Příklad výsledku testu dle normy ČSN EN ISO 20654 (zdroj: Šlamborová)

**4.1.4.3. Testování antibakteriální aktivity vrstev na pevných substrátech**

V průběhu testování antibakteriálních účinků nastal problém s hodnocením antibakteriálních vlastností hybridních vrstev, které byly nanесeny na pevné substráty (sklo, keramiku (kachličky, dlaždice), PMMA) a ozařovány (aktivovány) UV A zářením nebo běžným viditelným světlem. V literárních zdrojích jsem žádnou normu, která by popisovala způsob hodnocení výše uvedených vlastností, nenašla.

Proto jsem od roku 2006 používala metodu, která spočívá v následujícím postupu. Na substrát bylo naočkováno příslušné bakteriální inokulum (různé bakteriální kmeny) v koncentraci

$10^3$  CFU/ ml v objemu 300  $\mu$ l. Pak byl substrát ozařován (UV A záření, běžné světlo) a ve zvolených časových intervalech bylo odebráno 10  $\mu$ l ozářeného bakteriálního inokula, které bylo vyočkováno na Petriho misku s krevním agarem. Po 24 hodinové inkubaci v termostatu při 37 °C byl vyhodnocen výsledek testu. Tuto metodu jsem po celou dobu testů na pevných substrátech zachovávala a považuji ji za standardní. Tímto postupem jsem mohla také sledovat a hodnotit kinetiku bakteriální inhibice [177, 178] v závislosti na čase.

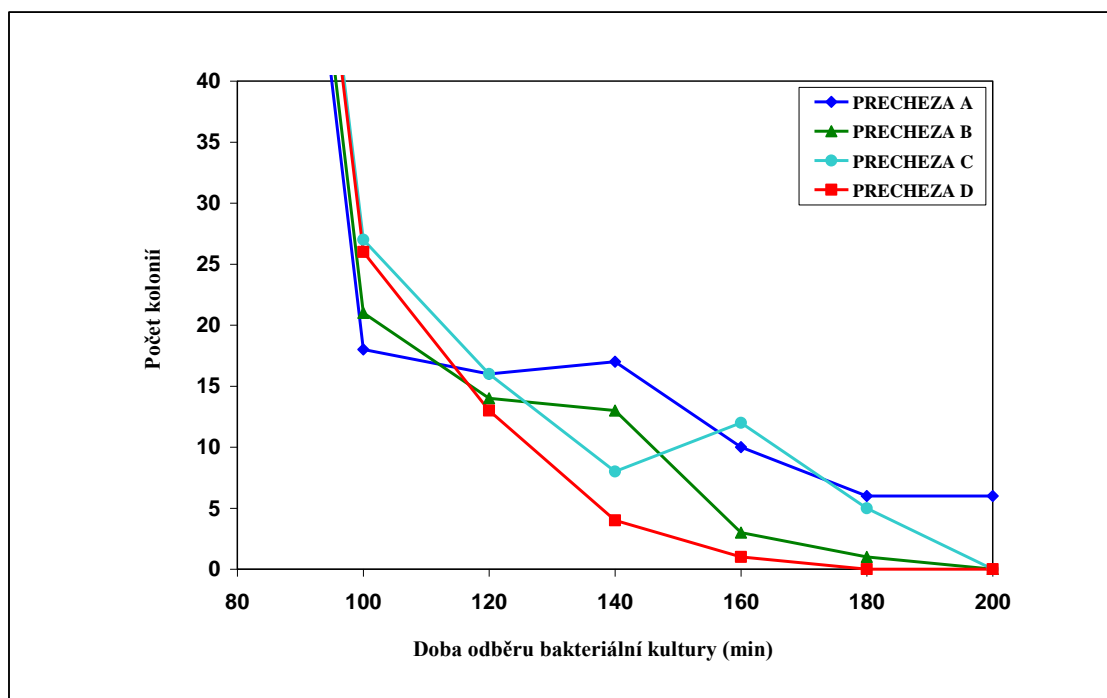
## 4.2. Výsledky

### 4.2.1. Inhibice bakteriálního kmene *St. aureus*

Jak jsem již uvedla, připravené vrstvy byly podrobeny velmi rozsáhlé bakteriologické studii. Na vzorky vrstev bylo nanášeno 300  $\mu$ l bakteriálního inokula. Vzorky byly ozařovány buď UV-A zářením (rozsah 315 - 400 nm) nebo běžným zářivkovým světlem. Intervaly odběrů aktivovaného bakteriálního inokula (osvitem UV A zářením nebo běžným světlem) byly voleny dle pilotních testů na jednotlivých substrátech vzhledem k reakci na testovaný bakteriální kmen. U všech testů byla počáteční koncentrace bakteriální suspenze  $10^3$  CFU/ ml.

U testů byl sledován počátek bakteriální inhibice (tedy okamžik, kdy začalo docházet k viditelnému úbytku bakteriálních kolonií), případně inhibice jako taková (tedy úplné vymizení bakterií). Tyto údaje jsou z bakteriologického hlediska nejvýznamnější a vypovídají o účinnosti testované vrstvy.

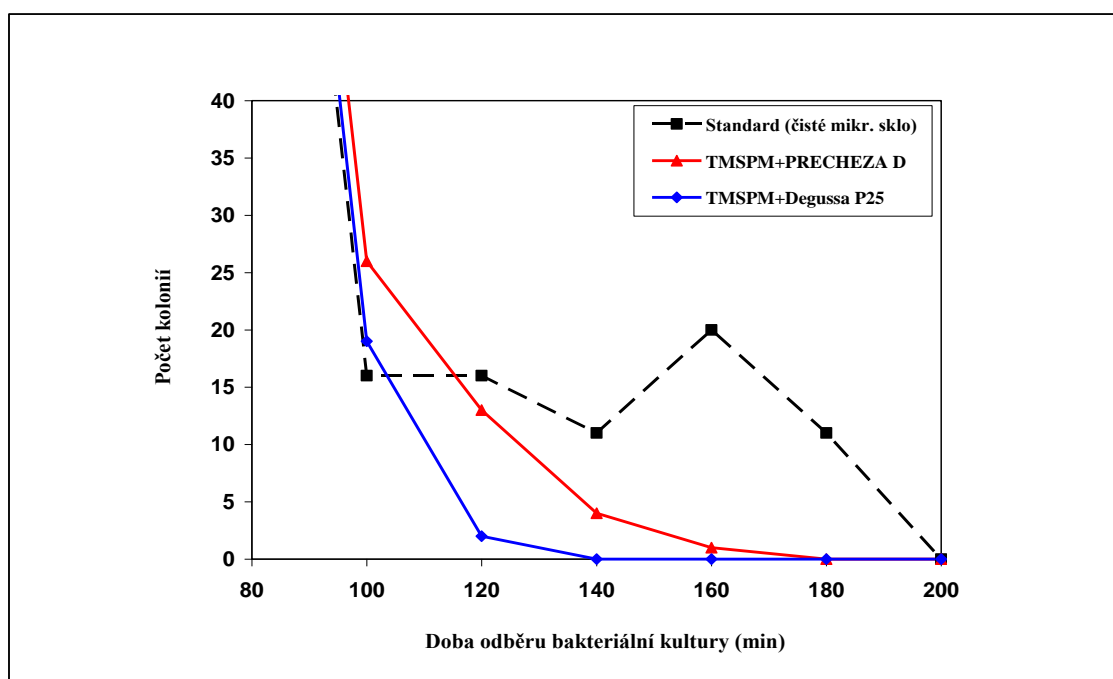
V grafu 2 jsou uvedeny výsledky testů a porovnání vlivu testovaných nanočástic Precheza na inhibici bakteriálního kmene *St. Aureus*. Přesněji se jednalo o vzorky vrstev připravených ze solí obsahujících TMPSM se 40 obj. %  $\text{TiO}_2$  Precheza A, B, C, nebo D nanesených na podložní skla a tepelně zpracovaných při 150 °C/ 3 h. Z uvedeného grafu jasně vyplývá, že ze všech čtyř testovaných typů vrstev s nanočásticemi vykazují nejlepší výsledky vrstvy obsahující nanočástice Precheza D. Počet bakteriálních kolonií klesá ve stanoveném čase rovnoměrně. 100% inhibice bakteriálního kmene *St. aureus* na vrstvách s nanočásticemi  $\text{TiO}_2$  Precheza D nastává ve 180. minutě po osvitu UV-A zářením. Je tedy přibližně o 40 minut pomalejší, než v případě vrstev s nanočásticemi  $\text{TiO}_2$  Degussa P25 (viz graf 3).



*Graf 2 - Inhibice bakteriálního kmene St. Aureus na hybridních vrstvách připravených ze solí s obsahem TMSPM s nanočásticemi  $\text{TiO}_2$  Precheza A, B, C a D nanesených na sklo, ozařováno UV A zářením.*

Jedním z cílů testování nanočástic Precheza byla snaha najít uplatnění pro nanočástice od českého výrobce v souvislosti se snížením nákladů na případnou výrobu antibakteriálních vrstev. Tato studie byla prováděna na katedře chemie TU v Liberci a základní výsledky byly kromě publikací shrnuty v disertační práci Veroniky Zajícové [158]. Vrstvy s nanočásticemi  $\text{TiO}_2$  Precheza D se průběhem inhibice nejvíce podobají vrstvám obsahujícím nanočástice  $\text{TiO}_2$  Degussa P25. Ostatní nanokompozitní hybridní vrstvy obsahující nanočástice  $\text{TiO}_2$  Precheza A, B, nebo C testované na bakteriální kmen St. aureus nejsou v tomto případě příliš vhodné jako antibakteriální vrstvy. Inhibice bakteriálního kmene St. aureus na těchto vrstvách probíhá nerovnoměrně a výrazně pomaleji než u vrstev obsahujících nanočástice  $\text{TiO}_2$  Precheza D.

V grafu 3 jsou uvedeny výsledky, získané z testů vrstev obsahujících nanočástice  $\text{TiO}_2$  Degussa P25 a Precheza D nanesených na podložních sklech, tepelně zpracovaných při  $150\text{ }^\circ\text{C}/3\text{ h}$ . V tomto případě se jako nejvhodnější pro antibakteriální aplikace jeví nanokompozitní hybridní vrstvy obsahující nanočástice  $\text{TiO}_2$  Degussa P25. Bakteriální kmen *St. aureus* je na tento typ nanočástic nejcitlivější. 100 % inhibice u nanokompozitních vrstev obsahujících Degussu P25 začíná před 140. minutou osvitů UV-A zářením. Výsledky zároveň potvrzují možnost nahradit německé nanočástice Degussa P25 českými nanočásticemi Precheza D. V tomto případě by však bylo lepší alespoň o 5 obj. % zvýšit obsah nanočástic Precheza D v nanokompozitních hybridních vrstvách, aby se tak zkrátila doba počátku 100 % inhibice uvedeného bakteriálního kmene.



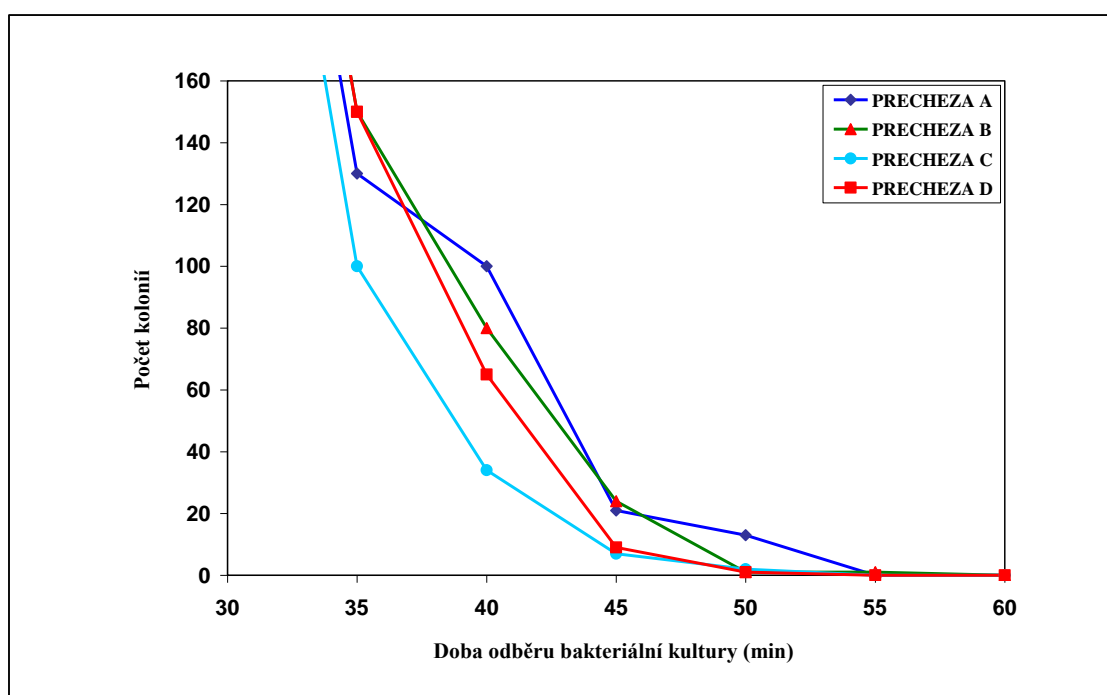
*Graf 3 - Inhibice bakteriálního kmene St. Aureus na hybridních vrstvách připravených ze solí s obsahem TMSPM s nanočásticemi  $\text{TiO}_2$  Degussa P25 a Precheza D nanesených na skle, osvit UV A zářením.*

#### 4.2.2. Inhibice bakteriálního kmene MRSA

Vrstvy byly podrobeny antibakteriálním testům na rezistentní bakteriální kmen MRSA. Všechny testované vzorky nanokompozitních hybridních vrstev vykazují na bakteriální kmen MRSA výrazně vyšší antibakteriální účinky, než tomu bylo v případě testování na bakteriální kmeny *E.coli* a *St. aureus*. Výjimku tvoří vzorek vrstvy nanesené na PMMA substrátu, o kterém se zmíním dále.

V grafech 4 a 5 rozhodně stojí za povšimnutí, že 100 % inhibiční účinek bakteriálního kmene MRSA začíná již před 60. minutou po osvitě UV A zářením. U tohoto bakteriálního kmene máme tedy o téměř 70 minut rychlejší počátek 100 % inhibice než tomu bylo u E.coli nebo St. aureus.

Vzhledem k tomu, že se na standardech (čisté podložní sklo a PMMA) objevoval kompaktní výsev bakteriálního kmene MRSA (jednalo se o miliony bakteriálních kolonií), nebylo možné spočítat množství jednotlivých bakteriálních kolonií. Standardy tedy nejsou ani v jednom z uvedených grafů znázorněny.



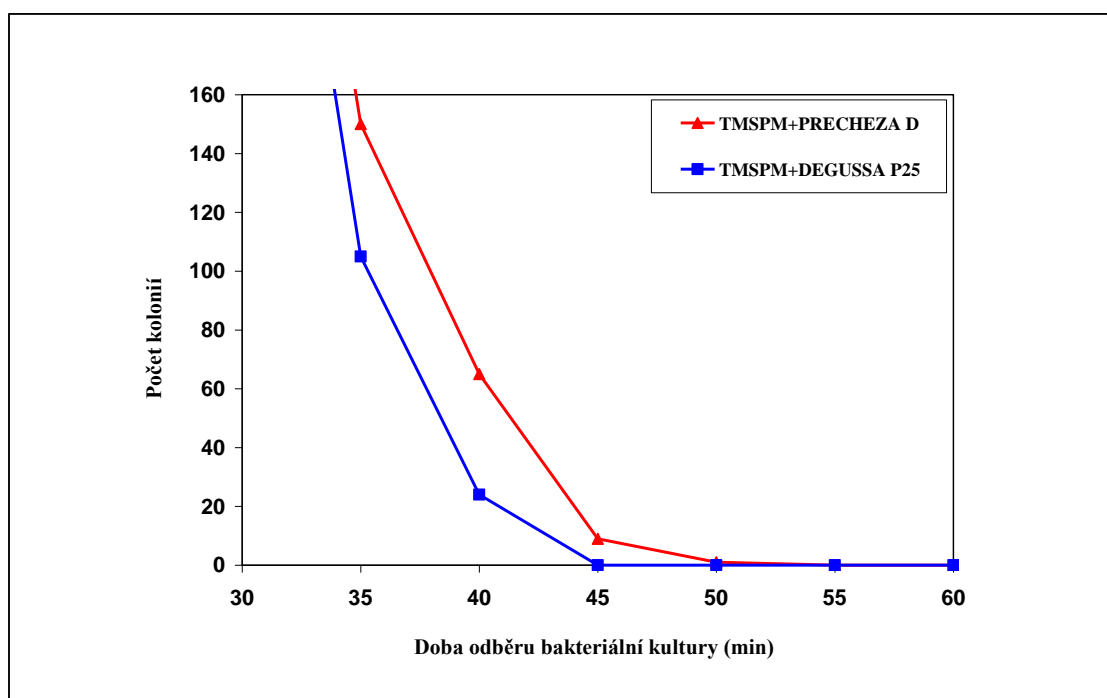
*Graf 4 - Inhibice bakteriálního kmene MRSA na nanokompozitních hybridních vrstvách připravených ze solí obsahujících TMPSM se 40 obj. % nanočástic TiO<sub>2</sub> Precheza A, B, C a D (sklo), ozařováno UV A.*

Antibakteriální účinky nanokompozitních hybridních vrstev s použitím různých typů nanočástic TiO<sub>2</sub> Precheza A, B, C, nebo D byly testovány na bakteriálním kmeni MRSA (graf 5). Vzorčky vrstev byly opět připraveny ze solu s obsahem TMPSM se 40 obj. % TiO<sub>2</sub> Precheza A, B, C, nebo D, nanесeny na podložní skla a tepelně zpracovány při 150 °C/ 3 h.

Nejlepší inhibici v tomto případě vykazují vrstvy s nanočásticemi TiO<sub>2</sub> Precheza C. Velmi podobně se však chovají i vrstvy s nanočásticemi TiO<sub>2</sub> Precheza B a D. U všech tří typů

vrstev s nanočásticemi Precheza B, C, nebo D klesá počet bakteriálních kolonií ve stanoveném čase rovnoměrně.

U vrstev obsahujících nanočástice Precheza B, C nebo D nastává 100 % inhibiční účinek již během 50. minuty ozařování UV-A, u vrstev obsahujících nanočástice TiO<sub>2</sub> Precheza A nastává 100 % inhibice kolem 55. minuty. Podle výsledků testů se v tomto případě jako nejvhodnější pro antibakteriální aplikace na bakteriální kmen MRSA jeví vrstvy obsahující nanočástice TiO<sub>2</sub> Precheza C nebo D.



*Graf 5 - Inhibice bakteriálního kmene MRSA na hybridních vrstvách obsahující TMPSM se 40 obj. % nanočástic Degussa P25 a Precheza D (sklo), ozařováno UV A.*

Také v grafu 5 jsou porovnány výsledky získané testováním vrstev obsahujících nanočástice TiO<sub>2</sub> Degussa P25 a Precheza D. Vzorky vrstev byly připraveny ze solu obsahující TMPSM se 40 obj. % nanočástic TiO<sub>2</sub>.

Nejvhodnější pro antibakteriální aplikace se opět jeví nanokompozitní hybridní vrstvy obsahující nanočástice TiO<sub>2</sub> Degussa P25. Stejně jako první testovaný bakteriální kmen *St. aureus*, také bakteriální kmen MRSA je na tento typ nanočástic prokazatelně velmi citlivý. 100 % inhibice u vrstev obsahujících nanočástice TiO<sub>2</sub> Degussa P25 nastává již po 45 minutách osvitů UV-A zářením, u vrstev obsahujících nanočástice Precheza typ D inhibice nastává po 50 minutách osvitů UV-A zářením. Průběh bakteriální inhibice je u obou

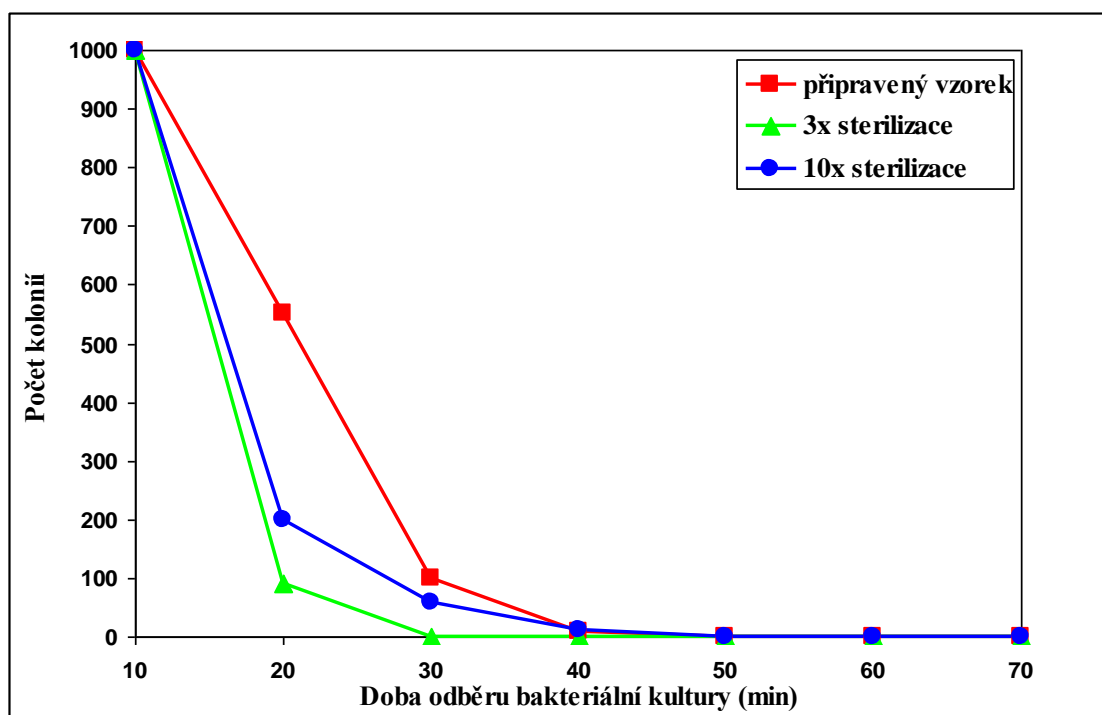


testovaných vrstev podobný, inhibice probíhá rovnoměrně bez jakýchkoliv výkyvů v podobě nárůstu, nebo stagnace úbytku bakterií.

Vybrané výsledky testování s bakteriálním kmenem E.coli jsou uvedeny v příloze 4.3.1

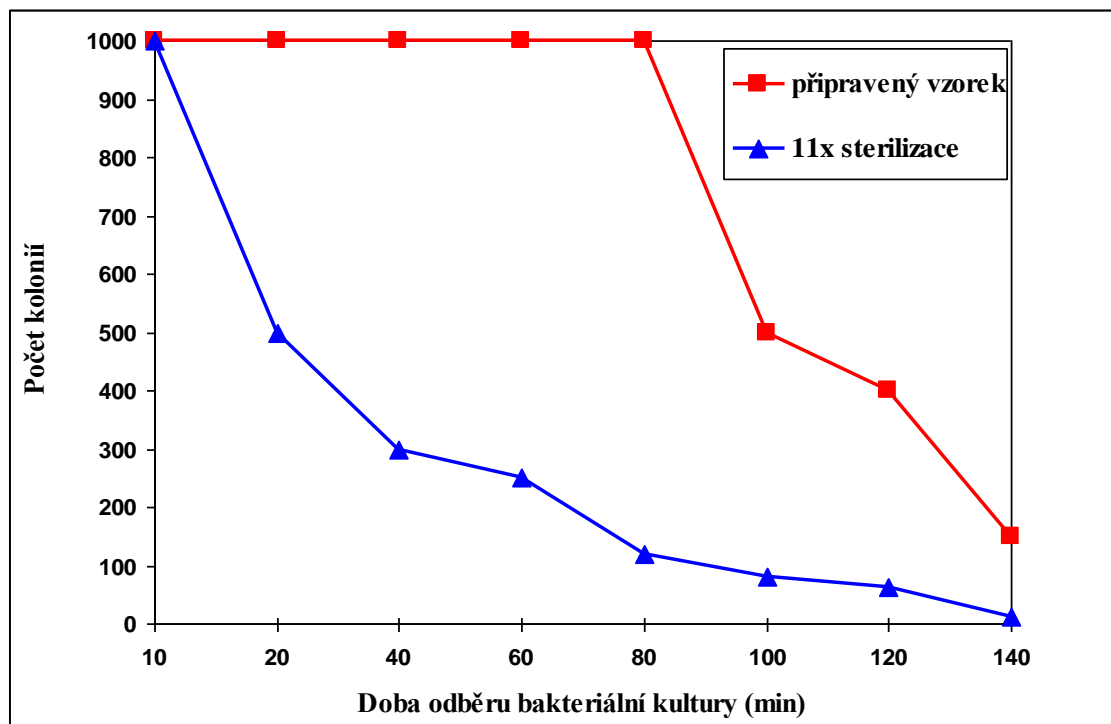
#### 4.2.3. Nové typy hybridních a nanokompozitních vrstev (označení AD7)

Na začátku roku 2011 jsme připravili další typ antibakteriální hybridní vrstvy (označení AD7), ke které jsme přidali další prvek (ve formě iontu), který zvýšil antibakteriální efekt vrstvy. Tímto prvkem je měď. Vrstvy byly připraveny stejnou metodou, která je popsána výše u předešlých typů solí. Protože uplatnění těchto vrstev je primárně ve zdravotnictví, kromě antibakteriálních studií byla pozornost věnována stabilitě vrstvy. Vrstvy nanesené na různé typy substrátů byly proto podrobeny opakované sterilizaci (sterilizováno 1 hod. při 130 °C u PMMA a 2 hod. při 95 °C u skla). Výsledky, které jsou prezentovány níže uvedenými grafy jasně dokazují, že se antibakteriální efekt po opakovaných sterilizacích oproti původnímu vzorku (bez sterilizace) nesnižuje, ale zůstává stabilní. Testy byly prováděny za osvětlení UV A zářením i osvětlením běžným světlem [179].



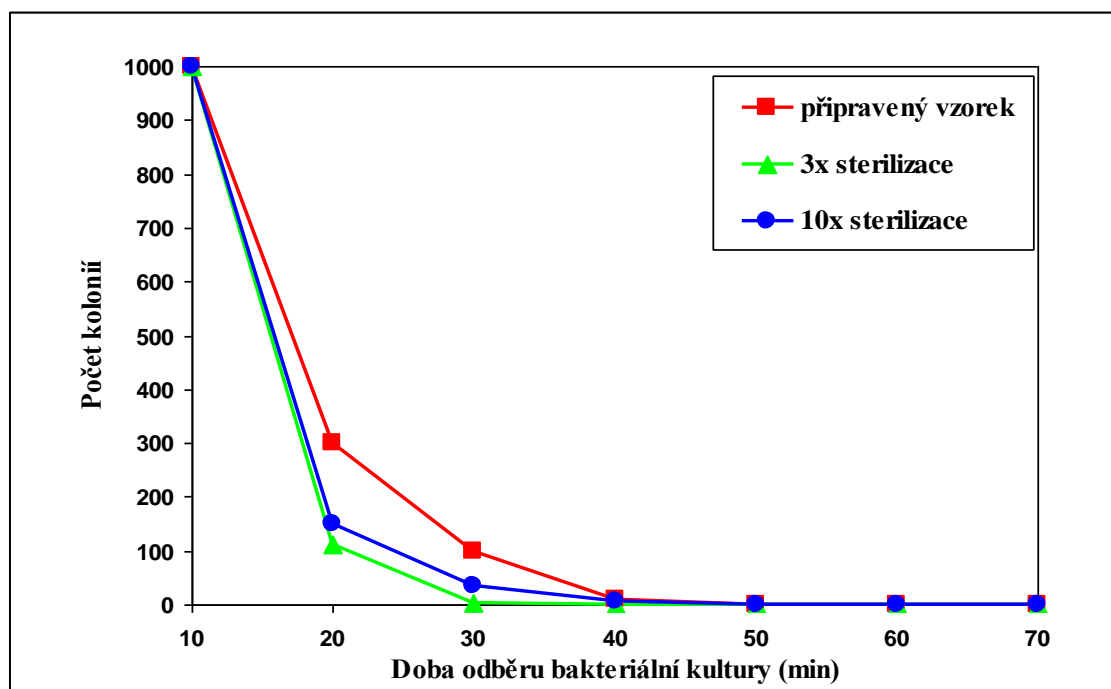
Graf 6 - Nanokompozitní hybridní vrstva AgTiCu (AD7) aplikovaná na skle bez nanočástic, osvit UV A zářením, testováno na bakteriálním kmeni MRSA.

Z grafu 6 je patrné, že i po deseti sterilizacích je inhibiční účinek vrstvy stejný, jako u vzorku bez sterilizace. Inhibice nastává ve všech třech případech ve 40 minutě po osvitě UV A zářením.



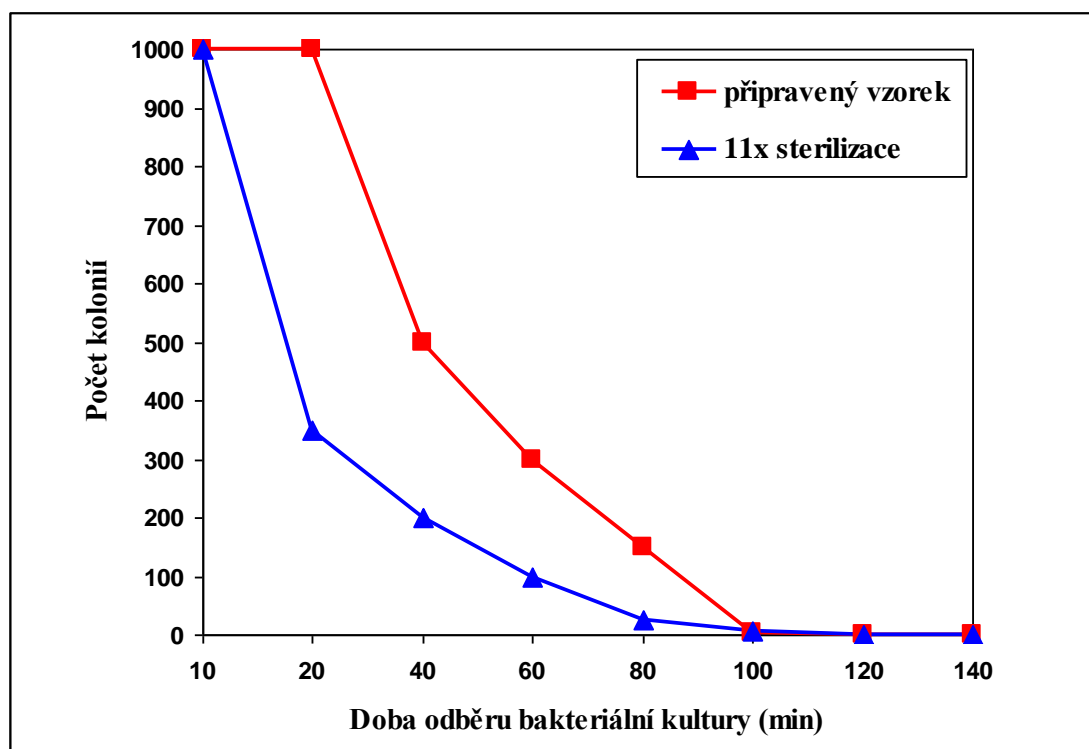
Graf 7 - Nanokompozitní hybridní vrstva AgTiCu (AD 7) aplikovaná na skle bez nanočástic, osvit běžnou zářivkou, testováno na bakteriálním kmeni MRSA.

Z grafu 7 vyplývá, že po 11 opakovaných sterilizacích při osvitě běžným zářivkovým světlem dochází k poklesu počtu bakteriálních kolonií poměrně rovnoměrně. Inhibice nastává kolem 140 minut po osvitě. U nesterilizovaného vzorku je bakteriální inhibice pomalejší. Tento jev lze vysvětlit tím, že u opakovaně sterilizovaného vzorku dochází k dočištění povrchu nanosené vrstvy, ionty kovů obsažené ve vrstvě jsou tak přístupnější k buněčné stěně bakterie a inhibiční efekt proto nastupuje rychleji. Tento jev byl pozorován i u dalších typů substrátů (textilie Ba + PES) a jiných bakteriálních kmenech. Zároveň je zde vidět, že osvitěm běžným zářivkovým světlem se inhibice zpomaluje o cca 100 minut oproti UV A záření, které je efektivnější.



Graf 8 - Nanokompozitní hybridní vrstva AgTiCu (AD 7) s obsahem nanočástic  $\text{TiO}_2$  (50 hm. % Precheza D) aplikovaná na skle, osvit UV A zářením, testováno na bakteriálním kmeni MRSA.

Tato vrstva (graf 8) opět vykazuje vynikající antibakteriální účinek. Inhibice na bakteriální kmen MRSA nastává u standardu i u vzorků po opakovaných sterilizacích ve 40 minutě po osvit UV A zářením. Stejného výsledku bylo dosaženo s hybridní vrstvou AD7 i bez obsahu nanočástic (graf 6). Je možné konstatovat, že přítomnost nanočástic  $\text{TiO}_2$  výrazně nezvyšuje inhibiční efekt. Vrstva tedy může být připravena bez těchto nanočástic.

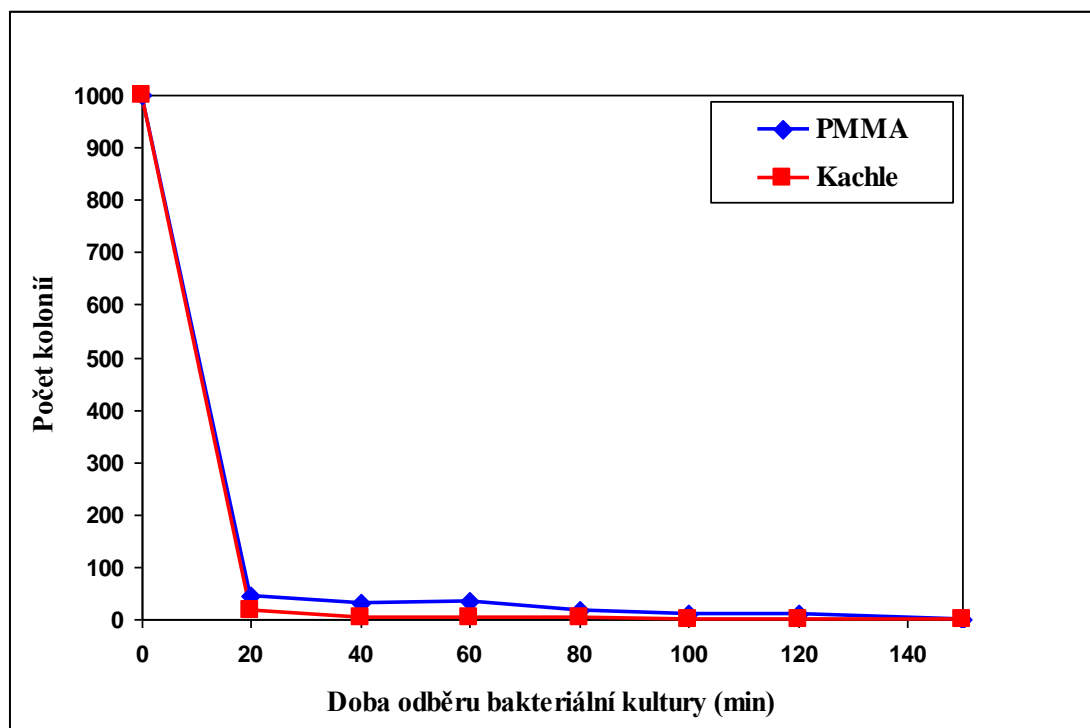


Graf 9 - Nanokompozitní hybridní vrstva AgTiCu (AD 7) s obsahem nanočástic  $\text{TiO}_2$  aplikovaná na skle, osvit běžným zářivkovým světlem, testováno na bakteriálním kmeni MRSA.

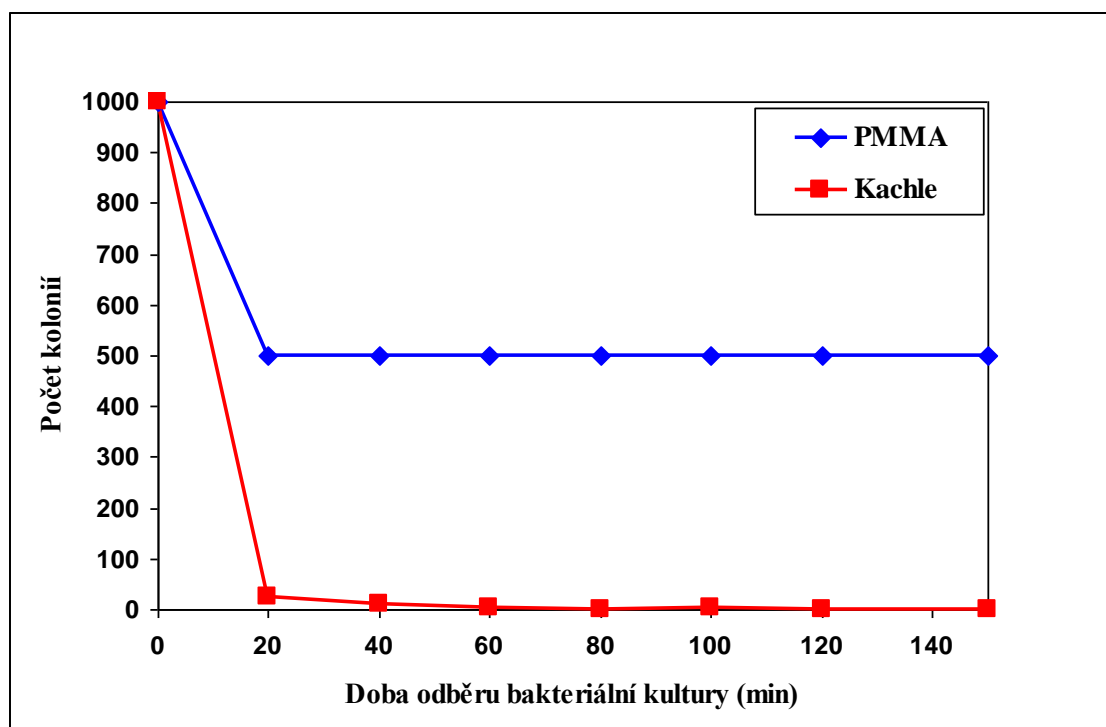
Po osvit běžným zářivkovým světlem nastává inhibiční efekt u standardu i u opakovaně sterilizovaného vzorku ve sté minutě po osvit. Testy zde opět potvrdily, že připravená a aplikovaná vrstva opakovanou sterilizací neztrácí svou antibakteriální schopnost (graf 9).

Pro další antibakteriální testy byla zvolena směs 8 druhů bakteriálních kmenů (*E. coli*, *St. aureus*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*., MRSA, MRSA 2 a *Acinetobacter baumannii*). Bakteriální koncentrace byla ponechána jako v předešlých testech  $10^3$  CFU/ml. Čas odběrů při ozařování UVA světlem byl zvolen po dvaceti minutách.

Výsledky vyjadřuje graf 10, ze kterého je patrné, že počátek inhibice u obou testovaných substrátů nastává do dvaceti minut po osvit. 100%-ní inhibice byla u kachle (keramika) zjištěna ve 40 minutě po osvit, u PMMA cca ve 130 minutě po osvit. Nicméně ale i u tohoto substrátu je počet znovuoobnovených kolonií v jednotkách.



Graf 10 - Nanokompozitní hybridní vrstva AgTiCu (AD 7) s obsahem nanočástic  $\text{TiO}_2$  aplikovaná na keramice (kachle) a PMMA, osvit UV A zářením, testováno na směsi 8 bakteriálních kmenů.



*Graf 11 - Nanokompozitní hybridní vrstva AgTiCu (AD 7) s obsahem nanočástic  $TiO_2$  aplikovaná na keramice (kachle) a PMMA, osvit běžným zářivkovým světlem, testováno na směsi 8 bakteriálních kmenů.*

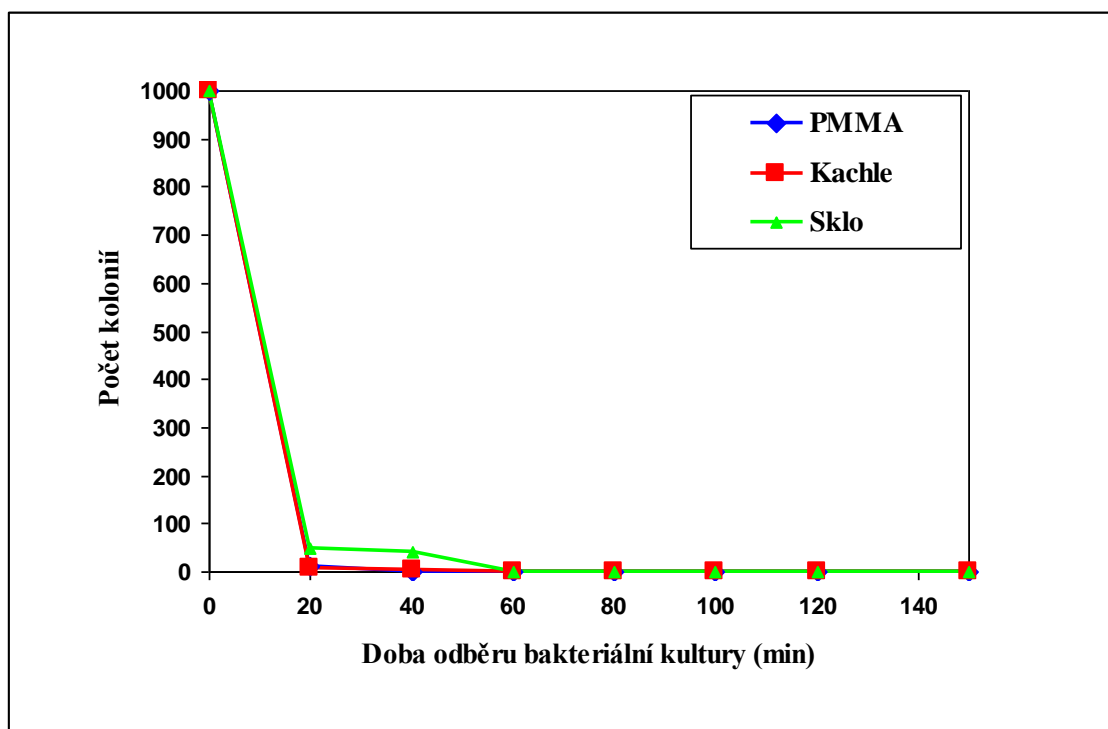
Po osvitu běžným zářivkovým světlem nastává počátek inhibice u obou testovaných substrátů do dvacáté minuty. Na keramice (kachle) se 100% inhibice projevuje v 60 minutě po osvitu. U PMMA je počátek inhibice výrazně znatelný do 20 minuty, pak se počet bakteriálních kolonií po celou další dobu ozářování pohybuje kolem 500 (graf 11).

Opět lze konstatovat, že efektivnější pro inhibici testovaných bakteriálních kmenů je UV A záření.

#### **4.2.4. Hybridní vrstva s obsahem stříbra, mědi a zinku (označení AD9)**

Z důvodu zrychlení inhibičního efektu vrstvy jsme připravili typ solu, který vychází z původního solu (označení AD7), ke kterému byly přidány ionty Zn. Tento typ solu jsme opět nanесли na různé typy pevných substrátů (sklo, keramika, PMMA) i na textilní substráty (Ba a směsový materiál Ba + PES) (kap. 4. 1.) Složení vrstvy je v současné době patentováno. Pro testování antibakteriálních účinků jsem zvolila opět směs 8 bakteriálních kmenů. Pro testování byla zvolena koncentrace bakteriálního inokula  $10^3$  CFU/ ml. Nanášený objem 300  $\mu$ l a intervaly odběru po osvitu po dvaceti minutách. Vrstvy se směsí bakteriálního

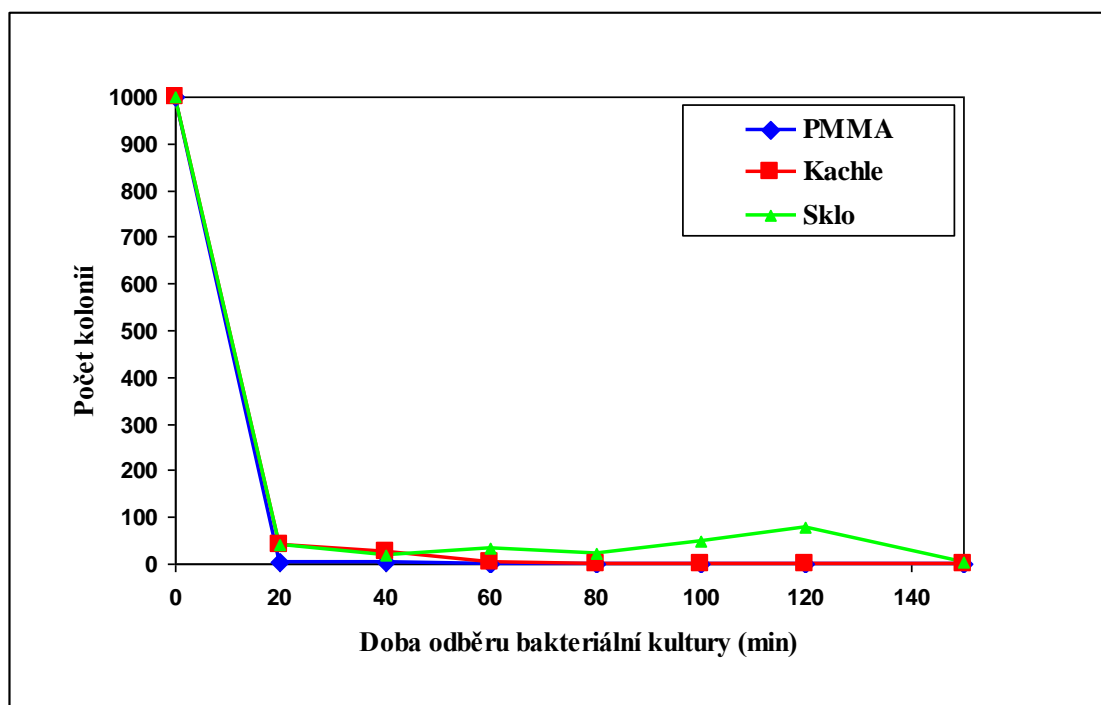
inokula byly testovány po osvitu UV A zářením a po osvitu běžným zářivkovým světlem. Vrstva byla nanесena na tři substráty (PMMA, keramika /kachle/ a sklo).



*Graf 12 - Nanokompozitní hybridní vrstva AD9 bez obsahu nanočástic aplikovaná na keramice (kachle), PMMA a sklu, osvit UV A zářením, testováno na směsi 8 bakteriálních kmenů.*

Bakteriální inhibice u všech tří testovaných substrátů nastává do dvacáté minuty po osvitu UV A zářením. Substrát PMMA a sklo se chovají naprosto shodně, tedy po dvacáté minutě po osvitu nastává 100% inhibice, křivky v grafu 12 se překrývají. U skla nastává 100% inhibice v 60 minutě po svitu. Rychlost inhibice u této vrstvy je rychlejší, než u vrstvy AD7.





Graf 13 - Nanokompozitní hybridní vrstva AD9 bez obsahu nanočástic aplikovaná na keramice (kachle), PMMA a sklu, osvit běžným zářivkovým světlem, testováno na směsi 8 bakteriálních kmenů.

I po osvitu běžným zářivkovým světlem je viditelné podobné chování vrstev nanosených na skle a PMMA. U PMMA nastává 100% inhibice ve 20 minutě, u keramiky (kachle) v 60 minutě. U skla inhibice začíná také ve 20 minutě po svitu, ve 120 minutě je viditelný mírný nárůst bakteriálních kolonií a ve 140 minutě již 100% inhibice. Protože se jedná o biologický systém a bakterie se množí podle růstových faktorů, které mají k dispozici, takže toto mírné kolísání je v souladu s růstovou bakteriální křivkou (graf 13).

V porovnání s vrstvou AD7 (za stejných podmínek osvitu) je tato vrstva výrazně inhibičně rychlejší a počet znovuobnovených bakteriálních kolonií se pohybuje maximálně do 100. Substráty PMMA a keramika se chovají velice podobně. U skla je inhibiční schopnost vrstvy o něco nižší.

#### **4.2.4.1. Hybridní vrstva AD9 na textilních substrátech**

Typ solu AD 9 (kap. 4.2.3.), který byl nanesen na pevné substráty (sklo, PMMA, keramika) jsem nanesla i na textilie. Volba substrátu a jeho materiálového složení vycházela z požadavků zdravotnických zařízení (složení 65% PES, 35% Ba), protože primární určení takto upravených textilií je směřováno na lékařské oděvy (plášť, kalhoty, halena, operační čepice, ústenka, prostěradla na operačních sálech, povlečení na JIP a podobně). Všechny zdravotnické textilie podléhají kontrolám a hodnocení podle stávajících norem [180, 181, 182, 183]. Zaměřila jsem se na hodnocení antibakteriálního účinku nanesené vrstvy na různé typy patogenních bakteriálních kmenů. Hodnocení jsem prováděla v mikrobiologické laboratoři KCH na TU v Liberci podle standardních mezinárodních norem [kap. 2. 5.].

Některé výsledky této rozsáhlé studie byly publikovány [184]. Pro porovnání byly připravené textilie s antibakteriální vrstvou zaslány k antibakteriálním testům (konkrétně na hodnocení odolnosti proti pronikání mikrobů za sucha) [185] do akreditované laboratoře Textilního zkušebního ústavu, s. p. v Brně. Výsledky této akreditované laboratoře jednoznačně prokázaly, že připravená vrstva má vynikající antibakteriální schopnosti. Protokol ze zkoušek je přiložen v příloze práce (kap. 8).

Pro dokreslení problematiky hodnocení antibakteriálních vlastností níže uvádím tabulku hodnocení dle ČSN EN 13785-1+A1 (aktualizovaná norma beze změn oproti předešlé - ČSN EN ISO 22612) [tab. 6]. Výsledky testů našich vzorků mnohonásobně převyšují požadavky na tento typ testu. **U našich vzorků se jedná o hodnotu  $\log = 0,45$  s  $\text{CFU} = 2,8$ . Požadavek je  $\log \leq 2$  s maximem 300 CFU.**

Tab. 6 - Požadavky na provedení pro operační pláště, roušky, kalhoty a další operační oděvy do čistých prostor [181].

Charakteristika	Jednotka	Požadavek			
		Běžné provedení		Nadstandardní provedení	
		Kritická oblast výrobku	Méně kritická oblast výrobku	Kritická oblast výrobku	Méně kritická oblast výrobku
Odolnost proti mikrobiální penetraci za sucha	log (CFU)	NV	$\leq 2$ a, c	NV	$\leq 2$ a, c
Odolnost proti mikrobiální penetraci za mokra	IB	$\geq 2,8$ b	NV	6,0 b, d	NV
Čistota - mikrobiální	log (CFU/dm <sup>2</sup> )	$\leq 2$ c	$\leq 2$ c	$\leq 2$ c	$\leq 2$ c
Čistota – nepřítomnost partikulárního materiálu	IPM	$\leq 3,5$	$\leq 3,5$	$\leq 3,5$	$\leq 3,5$
Třepivost	log (poč. vláken)	$\leq 4,0$	$\leq 4,0$	$\leq 4,0$	$\leq 4,0$
Odolnost proti penetraci kapalin	cm H <sub>2</sub> O	$\geq 20$	$\geq 10$	$\geq 100$	$\geq 10$
Pevnost v protržení – za sucha	kPa	$\geq 40$	$\geq 40$	$\geq 40$	$\geq 40$
Pevnost v protržení – za mokra	kPa	$\geq 40$	NV	$\geq 40$	NV
Pevnost v tahu – za sucha	N	$\geq 20$	$\geq 20$	$\geq 20$	$\geq 20$
Pevnost v tahu – za mokra	N	$\geq 20$	NV	$\geq 20$	NV
NV = není vyžadováno a Zkušební podmínky: provokační koncentrace 10 <sup>8</sup> CFU/g mastku a 30 minut doba vibrace. b Nejmenší významná odchylka (LSD) pro IB při stanovení podle EN ISO 22610, byla zjištěna 0,98 při 95% konfidenční úrovni. Toto je minimální odchylka, která je potřebná pro rozlišení mezi dvěma materiály, pokládanými za odlišné. Z tohoto důvodu materiály, které se odlišují až do 0,98 IB, nejsou pravděpodobně odlišné. (95% úroveň konfidence znamená, že pozorovatel bude mít správný závěr při přijetí této alternativy 19krát ze 20 případů). c Pro účely této normy, log CFU $\leq 2$ znamená maximum 300 CFU. d IB = 6,0 pro účely této normy znamená: žádná penetrace. IB = 6,0 je maximální dosažitelná hodnota.					

Hybridní vrstvu jsme aplikovali jak na neobarvenou tkaninu, tak i na tkaninu obarvenou, protože jsme museli zohlednit také estetické hledisko (běžně se dnes používají materiály barevné, ne pouze bílé).

Aktivace účinků vrstvy je podmíněna buď osvitem UV A zářením nebo osvitem běžným světlem. Po konzultacích na KTC TU v Liberci jsem proto zvolila reaktivní barvivo Levafix Braun E-RN monofluor triazin, které je stabilní při osvitu UV zářením.

V současné době probíhají jednání s firmami, které jsou dodavateli zdravotnických textilií o možnosti úpravy stávajícího textilního zdravotnického materiálu. Mezi základní dodavatele patří Hartmann – Rico a.s., Kimberly – Clark, Lohmann & Rauscher, Panep s.r.o. a Kurýr. Jejich sortiment tvoří z 52 % jednorázové a ze 48 % opakovaně použitelné operační pláště a další zdravotnické prostředky.

Podle studie, která je součástí diplomové práce Jany Kubíkové [186] jednoznačně vyplývá, že někteří současní dodavatelé nesplňují antibakteriální i další kritéria hodnocení textilních zdravotnických prostředků u opakovaně použitelných zdravotnických prostředků. Nejlepší výsledky (hodnocení dle norem) byly prokázány pouze u dvou firem, Hartmann – Rico a.s. a Kimberly – Clark.

Myslím si, že právě námi patentovaná vrstva s vynikajícími antibakteriálními účinky by mohla být vhodným řešením výše uvedených problémů. Jak jsem v této práci uvedla již několikrát, současné zdravotnictví se potýká s obrovskými problémy likvidace rezistentních patogenních bakteriálních kmenů, které působí velmi závažné zdravotní komplikace a zároveň představují výraznou ekonomickou zátěž při léčbě nakažených pacientů. Jednou z možností je právě zabránění přenosu bakterií pomocí zdravotnického prádla, protože právě prádlo představuje významný faktor přenosu a šíření nákaz ve zdravotnických zařízeních.

Uvádím nejvýznamnější závěry antibakteriální studie a odolnosti u výše popsaného textilního materiálu, na který byla nanесena metodou sol-gel vrstva s vynikajícím antibakteriálním účinkem. Byly testovány vrstvy pod označením AD7 a AD9.

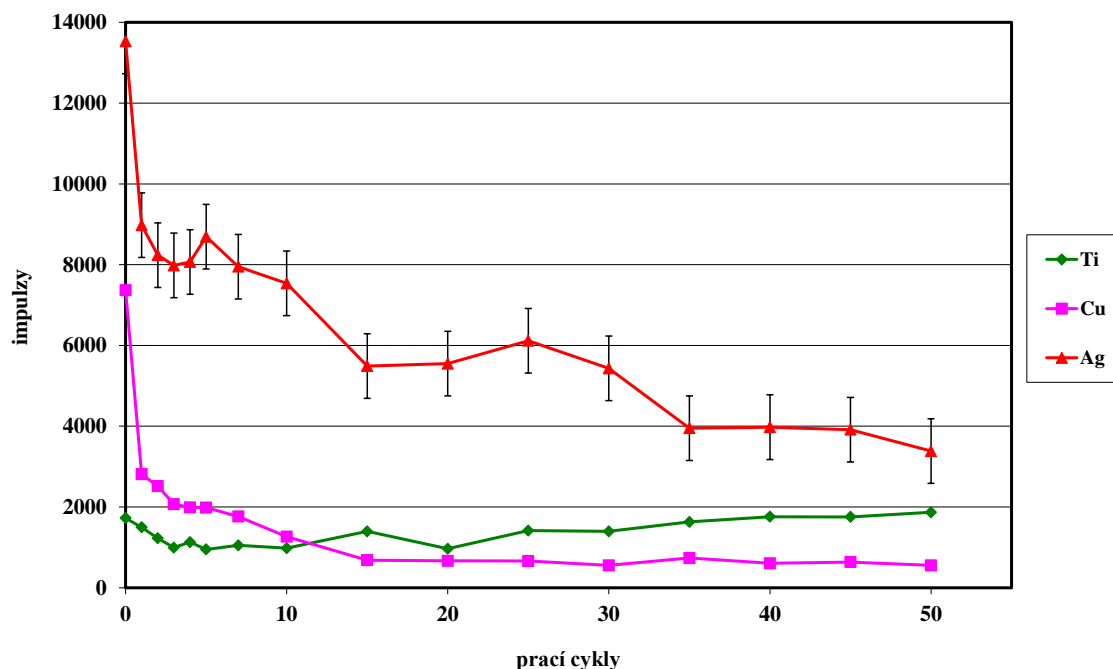
#### ***4.2.4.2. Ověření stability vrstev AD7 a AD9 na textilním substrátu***

Textilní substrát byl také testován z hlediska stability a odolnosti vrstvy v procesu praní. Byl sledován obsah jednotlivých iontů kovů u obou typů vrstev (AD 7 a AD 9). Pro analýzy obsahu iontů kovů v textiliích byl použit rtg. fluorescenční energiově disperzní analyzátor Elvax firmy Elvatech. Byla sledována stabilita vrstvy, konkrétně stabilita jednotlivých iontů

kovů, které jsou součástí vrstvy. U vrstvy AD7 se jednalo o ionty Ag, Cu a Ti u vrstvy AD9 se jednalo o ionty Ag, Cu, Zn a Ti.

Vzorky s nanesenou hybridní vrstvou AD7 byly opakovaně vyprány [174] až do dosažení 50 pracích cyklů. Po předem určeném počtu pracích cyklů (1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 a 50 cyklů) byl odebrán vzorek tkaniny s hybridní vrstvou a rtg. fluorescenční analýzou stanoven relativní obsah jednotlivých iontů kovů (v porovnání se vzorkem bavlny s hybridní vrstvou po přípravě bez praní). Výsledky jsou shrnuty v grafu 13. Z něj je patrné, že ke značnému poklesu obsahu sledovaných složek došlo během prvního pracího cyklu. Lze předpokládat, že vedle odstranění určitého množství hmoty hybridní vrstvy odrolené v místech styku jednotlivých vláken došlo k vyluhování kationtů  $\text{Ag}^+$  a  $\text{Cu}^{2+}$  z povrchu hybridní vrstvy. Při dalších pracích cyklech se již vyloužené množství Ag a Cu snižuje podstatně méně. Kolem 15 pracího cyklu se rychlost vyluhování Ag a Cu ještě zpomaluje. Ještě po 50 pracím cyklu je v bavlně přítomno přibližně 40 % Ag a 20 % Cu ve srovnání s hodnotami po prvním pracím cyklu.

Intenzita signálu (počet impulzů) pro Ag je ovlivněna koincencí s pásem pozadí použité rentgenky. Z tohoto důvodu je pro stříbro větší rozptyl měřených hodnot, v grafech 14 a 15 jsou uvedeny kvalifikované odhady chybné úsečky průměru pro pravděpodobnost 95%.



Graf 14 - Obsah iontů kovů po jednotlivých pracích cyklech u vrstvy AD 7.

Textilní substrát s nanesenou vrstvou AD 7 byl po vybraném počtu pracích cyklů podroben antibakteriálním testům na dvou bakteriálních kmelech E. coli a St. aureus. Uvedené testy

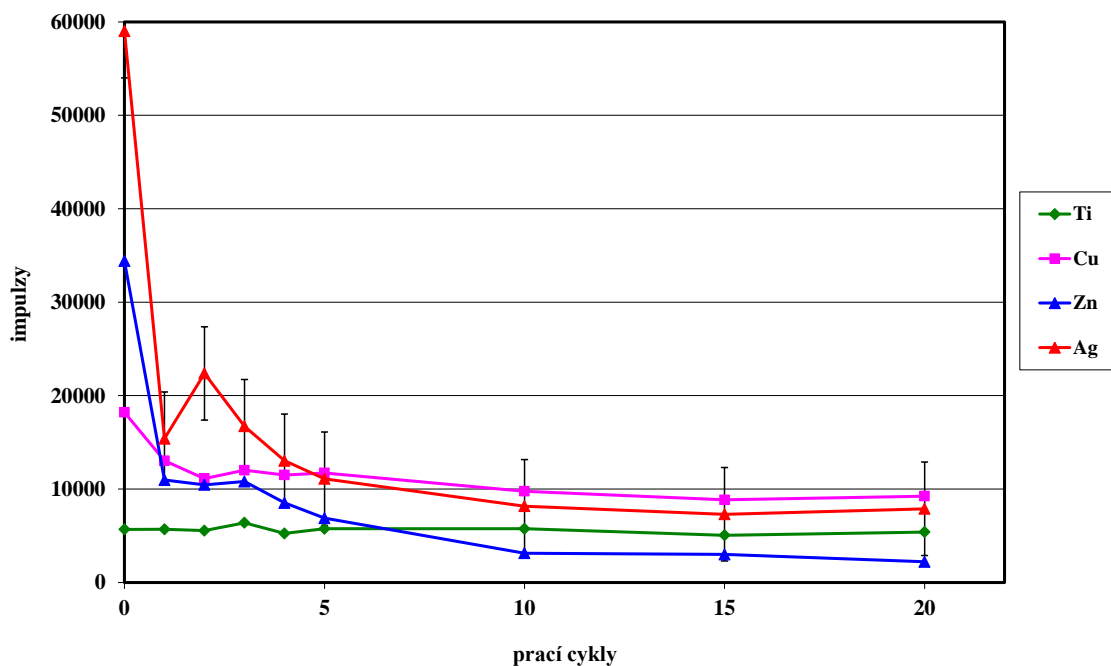
byly hodnoceny kvantitativní metodou AATCC Test Method: 100-2004. Výsledky po pracích cyklech jsou shrnuty v tabulce 7.

*Tab. 7 - Počet znovuoobnověných bakteriálních kolonií po vybraném počtu pracích cyklů (Ba – PES, vrstva AD 7), testováno na bakteriálních kmenech E. coli a MRSA, koncentrace bakteriálního inokula  $10^3$  CFU/ml, vzorky ozařovány 1 hod. UV A zářením.*

<b><u>Počet pracích cyklů</u></b>	<b><u>Escherichia coli (počet znovuoobnověných bakteriálních kolonií)</u></b>	<b><u>MRSA (počet znovuoobnověných bakteriálních kolonií)</u></b>
1	50	0
2	20	0
3	10	10
4	4	10
5	5	10
7	1	10
10	10	0
15	50	0
20	0	0
25	0	0
30	1	0
35	0	0
40	1	0
45	0	0
50	1	0
<b>Standard nepraný</b>	<b>cca 150 drobných kolonií</b>	<b>0</b>

Přesto, že obsah iontů Ag mírně klesal do 35. pracího cyklu, bakteriologické testy jsou od 20. pracího cyklu stabilní. Z výsledků jednoznačně vyplývá, že rezistentní bakteriální kmen MRSA je vůči testované vrstvě na textilním substrátu velice citlivý, což dokazuje 100% inhibice od 10. pracího cyklu.

Další graf 14 shrnuje výsledky 20 pracích cyklů u vrstvy AD 9. Z grafu je patrný stejný efekt, který byl pozorován i u vrstvy AD 7, tedy, že k největšímu poklesu sledovaných iontů kovů dochází po prvním pracím cyklu. Od 5. pracího cyklu je obsah jednotlivých iontů stabilní a nesnižuje se. Tyto výsledky potvrzují stabilitu obou typů vrstev nanesených na textilním substrátu.



Graf 15 - Obsah iontů kovů po jednotlivých pracích cyklech u vrstvy AD 9.

Tab. 8 - Výsledky bakteriologických testů (Ba + PES, vrstva AD 9, koncentrace bakteriálního inokula  $10^3$  CFU/ml, ozařováno UV A zářením), po prvním cyklu praní.

Bakteriální kmen	osvit UV A 1 h.	osvit UV A 2 h.	osvit UV A 3 h.	osvit UV A 4 h.	osvit UV A 5 h.
<i>E. coli</i>	2 kolonie	100 % inhibice	100 % inhibice	100 % inhibice	100 % inhibice
<i>St. aureus</i>	100 % inhibice	100 % inhibice	100 % inhibice	100 % inhibice	100 % inhibice
<i>MRSA</i>	1 kolonie	100 % inhibice	100 % inhibice	100 % inhibice	100 % inhibice
<i>MRSA 2</i>	1 velká + drobné kolonie	100 % inhibice	100 % inhibice	100 % inhibice	100 % inhibice
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1 velká + drobné kolonie	100 % inhibice	100 % inhibice	100 % inhibice	100 % inhibice
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	drobné kolonie	100 % inhibice	100 % inhibice	100 % inhibice	100 % inhibice
<i>Proteus vulgaris</i>	drobné kolonie	100 % inhibice	100 % inhibice	100 % inhibice	100 % inhibice
<i>Proteus mirabilis</i>	1 velká + drobné kolonie	100 % inhibice	100 % inhibice	100 % inhibice	100 % inhibice



Protože antibakteriální testy na pevných substrátech prokázaly, že vrstva AD 9 účinkuje rychleji než vrstva AD 7, použila jsem na její testování na textilním substrátu větší počet bakteriálních kmenů (tab. 8).

Antibakteriální testy byly provedeny po 5, 10 a 20 pracím cyklu. Výsledky antibakteriálních testů po 5, 10 a 20 cyklu prání nejsou uvedeny v tabulce, protože ve všech případech (délka ozařování UV A zářením byla stejná jako v tab. 8) byla prokázána 100% inhibice.

Tyto výsledky potvrzují stabilitu obou typů vrstev (AD 7 i AD 9) nanesených na textilním substrátu. Bakteriologické testy na textilním substrátu jednoznačně potvrdily, že vrstva AD 9 účinkuje při ozáření UV A zářením rychleji, než vrstva AD 7 a je tedy pro zamýšlené biomedicínské aplikace jednoznačně lepší.

#### ***4.3. Závěrečné shrnutí nejdůležitějších výsledků***

Připravené hybridní vrstvy s obsahem nanočástic od firmy Precheza a.s. Přerov vykazují na testované bakteriální kmeny poměrně dobrý inhibiční účinek. Výrazně lepšího výsledku bylo dosaženo s přidáním nanočástic pod označením Precheza D do solu. Inhibiční účinek nastává u bakteriálního kmene *St. aureus* ve 180 minutě, u bakteriálního kmene MRSA v 50 minutě a bakteriálního kmene *E. coli* ve 190 minutě po osvitě UV A zářením. Lze tedy konstatovat, že bakteriální kmen MRSA je nejcitlivější. Zároveň z testů vyplývá, že nanočástice pod označením Precheza D vykazují stejné vlastnosti jako testované nanočástice Degusa P 25 (německý výrobce), které jsou mnohem dražší. Lze tedy doporučit využívat uvedené nanočástice českého výrobce Precheza a.s. Přerov. Vrstvy byly testovány i na osvit běžným zářivkovým světlem, kde je inhibice pomalejší o 20 – 40 minut dle testovaného bakteriálního kmene.

U dalších připravených nanokompozitních hybridních vrstev AD 7 a AD 9 byly porovnány výsledky testů s obsahem i bez obsahu nanočástic. Antibakteriální účinek těchto vrstev byl potencován přidávkou iontů kovů Ag, Cu a u vrstvy AD 9 ionty Zn. Rozsáhlá bakteriologická studie prokázala, že inhibice na směs osmi testovaných patogenních bakteriálních kmenů nastává po nanesení vrstvy AD 9 na pevné substráty (sklo, keramika PMMA) do 20 minut po osvitě UV A zářením. Po osvitě běžným zářivkovým světlem je inhibice o cca 20 minut pomalejší.

Vrstva nanosená na textilním substrátu na jednotlivé bakteriální kmeny vykazuje již po 60 minutách osvitů UV A zářením 100% inhibici. Vrstva AD 7 vykazuje podobné účinky, ale nástup inhibice je o 10 – 20 minut pomalejší.

Dalšími testy byla prokázána stabilita vrstev nanesených na různých typech substrátů. Na textilním substrátu (Ba nebo směs Ba + PES) byla prokázána po 50 pracích cyklech stabilita vrstvy. U pevných substrátů byla stabilita ověřena opakovanou sterilizací horkým vzduchem (1 hod. při 130 °C u polymethylmetakrylátu - PMMA a 2 hod. při 95 °C u skla a keramiky), sterilizace byla provedena 10 krát.

Tloušťka nanesených vrstev byla 150 nm, index lomu 1, 52. Tyto hodnoty jsou velice podobné základním vrstvám, ze kterých vrstvy AD 7 a AD 9 vycházely (kap. 4. 1. 3. 1) .

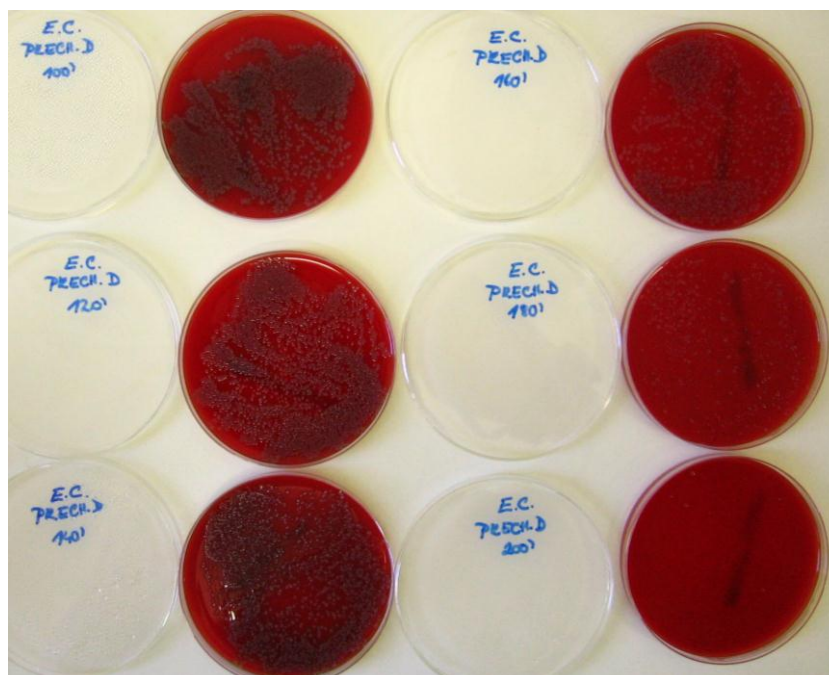
Vrstvy lze tedy bez problémů nanášet na sklo, keramiku (dlaždice, obkladačky), PMMA, bavlnu nebo směs bavlna 35% + polyester 65%).

Účinek UV A záření zvyšuje rychlost inhibičního efektu oproti zářivkovému světlu. Každý bakteriální kmen reaguje na podmínky testování trochu jinak, ale lze říci, že rychlost inhibice po osvitů UV A zářením o několik desítek minut zrychluje proces inhibice. Proto, pokud je možné použít UV A záření, inhibiční proces je efektivnější.

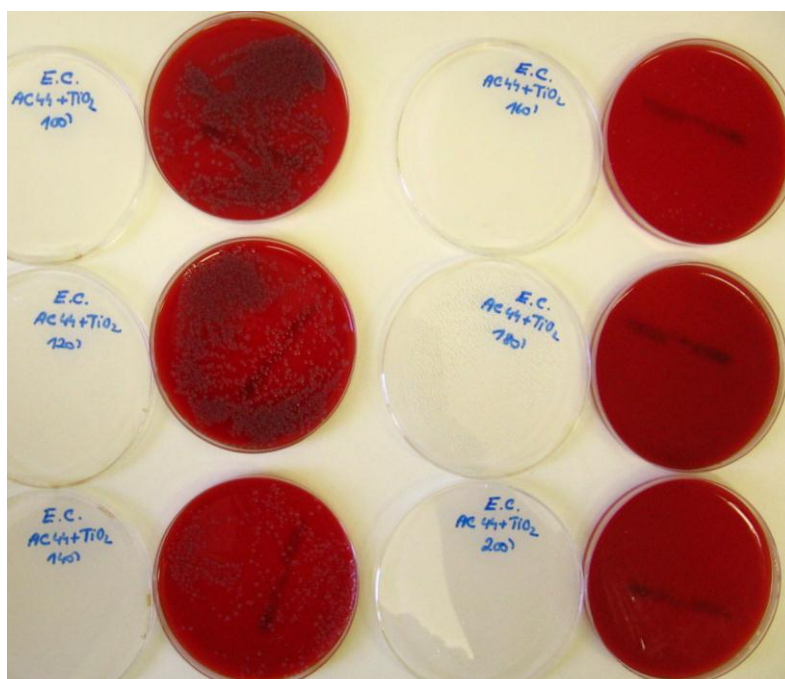
Celá série testů také prokázala, že přítomnost nanočástic v hybridních vrstvách výrazně nezvyšuje antibakteriální efekt.

#### 4.3.1. Přílohy k bioaktivním vrstvám

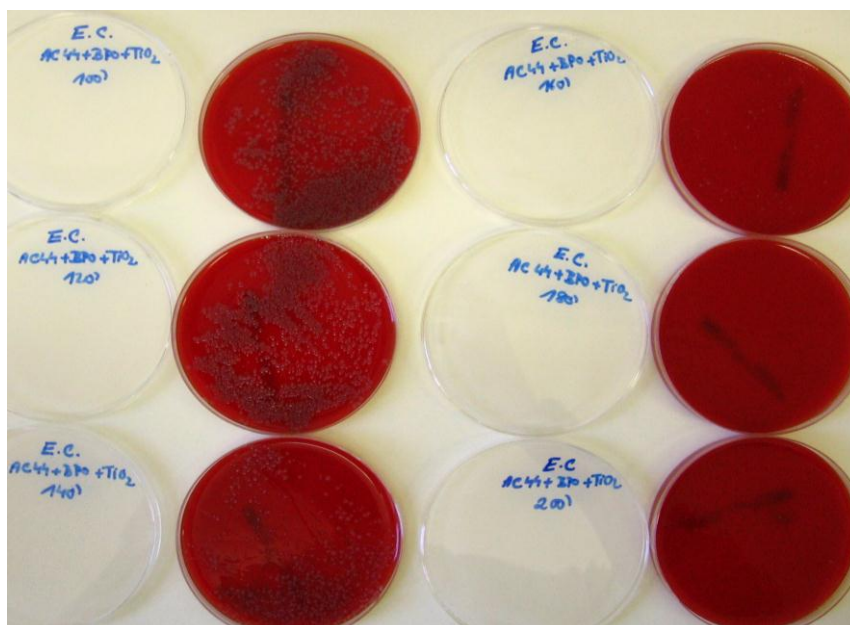
##### *Inhibice bakteriálního kmene E.coli*



*Inhibice E. coli na nanokompozitní vrstvě připravené ze solí s obsahem TMSPM obsahující nanočástice TiO<sub>2</sub> Precheza D. Fotoaparát Olympus C-60.*



*Inhibice E. Coli na nanokompozitní vrstvě připravené ze solí s obsahem TMSPM obsahující nanočástice TiO<sub>2</sub> Degussa P25. Fotoaparát Olympus C-60.*



*Inhibice E. Coli na nanokompozitní vrstvě připravené ze solů s obsahem TMSPM +BPO obsahující nanočástice  $\text{TiO}_2$  Degussa P25. Fotoaparát Olympus C-60.*

## 5. Nanovláknenné obvazy (materiály) s imobilizovanými biomolekulami

### ***5.1. Úvod - historie a význam***

Textilní krytí ran jako jsou obvazy a náplasti jsou historicky známé a široce používané v medicínských aplikacích. Jednoduchá krytí nebo obvazy s modifikovanými povrchy pomocí nanosolů, které podporují procesy hojení ran, jsou intenzivně studovány posledních dvanáct let. Kromě ochrany proti nebezpečným bakteriálním kmenům by antimikrobiálně upravené obvazy nebo krytí mohly být používány jako terapeutický materiál v mnoha lékařských oblastech. Příkladem je léčba kožních problémů (atopický ekzém, psoriáza, popáleniny, hnisavé rány aj.). Léčba ran může být zároveň podpořena použitím antimikrobiálního oblečení, sloužícího jako prevence sekundárních bakteriálních nebo plísňových infekcí [187 - 189]. Hlavní otázkou je tedy zajištění prevence infekcí [190] a následně dlouhodobá prevence před vznikem chronických a těžce se hojících ran [191].

Základem je vytvoření bariéry proti vniku mikroorganismů do rány. Účelem je tedy vytvořit takové krytí, které bude obsahovat účinné biocidní látky. Dva z nejdůležitějších a účinných biocidních činitelů jsou stříbro a sloučeniny obsahující stříbro. Použít by se tedy dala vlákna potažená kovovým stříbrem [192] nebo polymerní vrstvy, které stříbro obsahují. Blaker a kol. připravili vrstvy dopované stříbrem, které byly použity v tkáňovém inženýrství a pro léčbu chronických ran. [193].

V současné době stříbrem modifikované textilie zaznamenávají široký komerční zájem. Dále je pozornost věnována možnostem vytvoření nanovrstev aplikovaných na nové typy obvazů, které by mohly být v budoucnosti použitelné zejména v dermatologii. Jedním z důležitých témat je konstrukce léčebného krytí s ukotvenými bioaktivními látkami. Budoucnost kožního lékařství spočívá v imobilizaci bioaktivních látek jako je například dexpanthenol, který umožňuje doléčení rány, další možností je imobilizace antibiotik, které mohou buď preventivně zabraňovat infekci ran, nebo ránu infekce zbavit. Imobilizované bioaktivní složky s vyšší molekulovou hmotností jako jsou například oligopeptidy, mohou být použity jako růstové faktory podporující procesy hojení ran.

## 5.2. Rány a jejich charakteristika

### 5.2.1. Infekce ran

Každá rána, i tzv. aseptická operační rána, je osídlena choroboplodnými zárodky. Přítomnost bakterií v ráně ještě neznamená infekci, ale je označována jako kontaminace. Teprve tehdy, když bakterie proniknou hlouběji do rány, kde se pomnoží a svými toxiny poškodí tkáň a vyvolají zánětlivou reakci, je možno hovořit o přítomnosti rané infekce.

Obecně lze říci, že čerstvá rána je náchylnější ke vzniku infekce. S postupnou mobilizací obranných mechanismů se riziko vzniku infekce snižuje, takže rána s dobře vaskularizovanou granulační tkání může proniknutí původců infekce odolávat. Také starší chronické rány jsou proti infekcím odolnější. Dále nekrotická tkáň, která není prokrvovaná a představuje ideální půdu pro bakterie.

Nebezpečný je také sekret hromadící se v hlubokých ranách a chobotech, kdy dochází k vytvoření vlhké komory. Tento negativní efekt může být ještě zesílen použitím nevhodného obvazu s nedostatečnou savostí a propustností pro vodní páry.

Velmi problematicky léčitelné jsou zejména chronické rány, tedy rány sekundárně se hojící, které i přes adekvátní terapii nevykazují po dobu 6-9 týdnů tendenci k hojení.

### 5.2.2. Vybrané chronické rány

#### a) „Syndrom diabetické nohy“

Toto onemocnění má příčinu v neuropatických a angiopatických procesech, stav pacienta mohou komplikovat i další onemocnění. Riziko vzniku infekce u diabetických pacientů je poměrně vysoké. Může se jednat o povrchové postižení pokožky, přes hluboké postižení vaziva až i gangrénu celé nohy (obr. 21), která většinou končí amputací prstů, amputací nad kotníkem nebo amputací celé končetiny většinou pod kolenem.



Obr. 21 - Nekrotická tkáň v oblasti prstů a částečně chodidla [194].



### b) Dekubity

Dekubitus (proleženina) je poškození kůže vzniklé následkem lokálního působení tlaku (obr. 22). Snížené prokrvení vede k hromadění toxických produktů látkové výměny ve tkáních s následujícím zvýšením permeability kapilár, rozšířením cév, tvorbou edému a celulární infiltrací. Poškození probíhá v závislosti na době působení tlaku, což v praxi znamená, že včasným odstraněním příčiny lze zabránit nejtěžšímu poškození. Dekubity se mohou vyvinout v podstatě na jakémkoliv místě těla, které je vystaveno tlaku. Největší riziko vzniká ale tehdy, jestliže tlak těla a protitlak podložky působí nad kostními prominencemi s tenkou podkožní tukovou vrstvou. Za predispoziční lokalizace lze považovat sakrální oblast, paty, sedací kosti, oblast nad velkými trochantery (kostní výstupek v horní části stehenní kosti, v blízkosti kyčelního kloubu) a také vnější kotníky. 95% všech dekubitů vzniká právě v těchto oblastech.

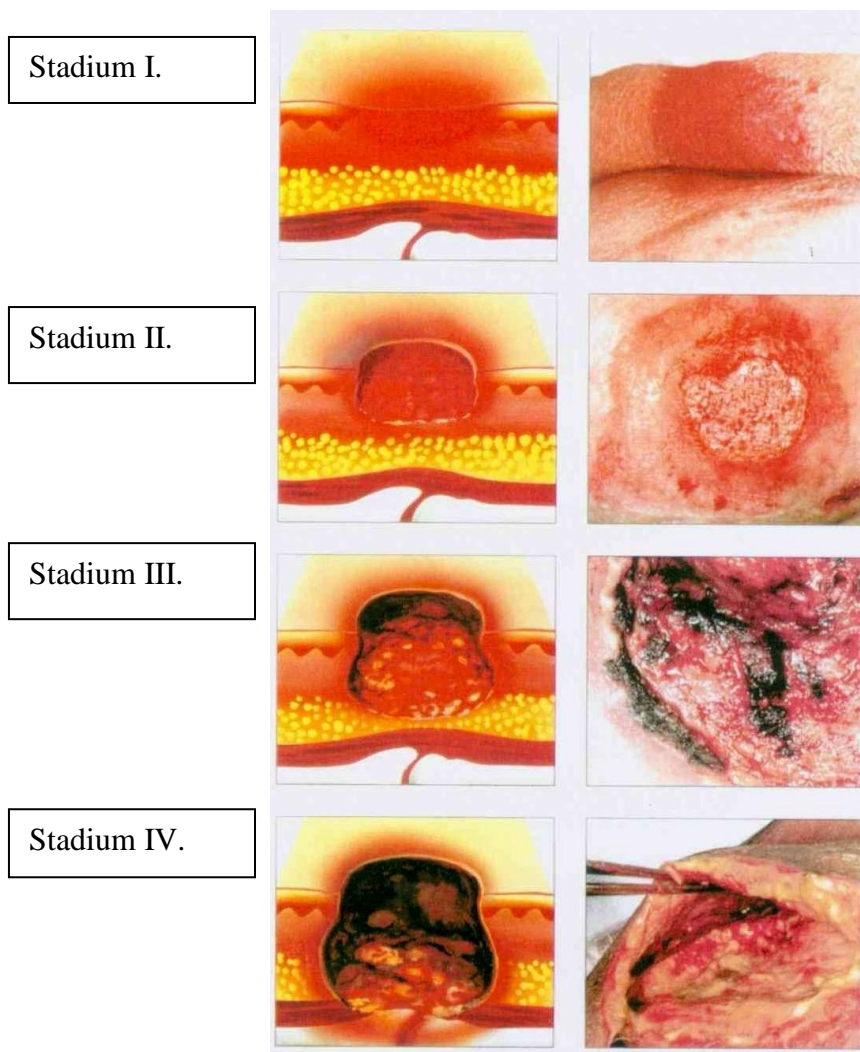


*Obr. 22 - Hluboký dekubit v oblasti bederní páteře – jedno z nejčastějších míst vzniku dekubitů [195].*

### c) Bércové vředy

Bércový vřed (ulcus cruris) vzniká poškození kůže nejčastěji v oblasti bérce a na vnitřní straně kotníku. Velká většina bércových vředů je žilního původu. Příčinou je městnání krve v dolních končetinách, žíly se tlakem krve rozšiřují, poloměsíčité chlopně v nich postupně ztrácejí elasticitu a průtok krve se zpomaluje. Následkem toho vzniká otok, dochází k poruše výživy v končetině. Bezprostřední příčinou vzniku bércových vředů bývá drobné poranění kůže v popsaných oblastech a následná infekce. Výskyt tohoto onemocnění se pochopitelně zvyšuje s věkem.

Následující obrázek (obr. 23) dokumentuje jednotlivá stadia bércových vředů, v levém sloupci jsou schématické nákresy jednotlivých stádií, pravý sloupec tvoří fotodokumentace k příslušným schémátům.



*Obr. 23 - Klasifikace bérceových vředů – stadium I., stadium II., stadium III., stadium IV [195].*

Stadium I. – Je viditelné ostře ohraničené zarudnutí kůže.

Stadium II. – Zde je vidět částečná ztráta epidermis a dermis (vrchní části kůže), ale ještě bez zasažení subcutis. Jedná se o povrchový vřed, který vypadá jako eroze, puchýř nebo plochý kráter.

Stadium III. – Zde se jedná už o poškození všech vrstev kůže, které může dosahovat až k fascii (vazivový obal svalu), která není zasažena. Vřed vypadá jako hluboký kráter bez podminování okolní tkáně.

Stadium IV. – V tomto posledním stádiu je vidět ztráta kůže v celé tloušťce s rozsáhlými nekrózami tkáně a poškození svalů, šlach a kostí, podminováním a tvorbou kapes.

U stadia III. a IV. vzniká nebezpečí septických komplikací.



### 5.2.3. Rány a antibiotika

V důsledku nejrůznějších difúzních bariér v ráně, jako jsou např. hnis nebo nekrózy, zasahují antibiotika velmi obtížně do vlastního průběhu infekce. To opět zvyšuje nebezpečí vzniku rezistence choroboplodných zárodků. Zatímco na povrchu rány je koncentrace antibiotika vysoká, směrem do hloubky se tato koncentrace snižuje. Další nevýhodou lokálního používání externího krytí s antibiotiky je výskyt kontaktních alergií, především při jejich opakovaném a dlouhodobém používání. Některá antibiotika mohou také negativně ovlivňovat proliferaci a epitelizaci ran. Používání antibiotik je dnes kontroverzně diskutováno. Za akceptovatelný postup při ošetřování lze považovat systémové podání antibiotik po bakteriální kultivaci a určení konkrétní bakterie. V případě akutních infekcí nebývá většinou výsledek mikrobiologického rozboru k dispozici, protože léčba se uskutečňuje širokospektrými antibiotiky.

Myslím si, že s některými názory dermatologů nelze úplně souhlasit. Pokud imobilizované antibiotikum má požadovaný účinek, délka léčby rány (čištění rány) nemusí trvat v délce týdnů, jak uvádějí někteří dermatologové, ale léčení by se mělo zkracovat. Nehrozí tak kontaktní alergie z antibiotik, která se u některých pacientů může vyskytnout. Pokud je pacient alergický např. na penicilinová antibiotika podávaná perorálně, jsou mu nasazena jiná. Stejně je tomu i u těchto typů nanovláknenných obvazů, kde by byl brán zřetel na citlivost pacienta vůči antibiotikům.

Možnou alternativní volbou by tedy bylo použití antibiotik, která by byla pevnou (kovalentní) vazbou imobilizována na nosiči a antibiotikum by se do rány přímo neuvolňovalo. Jednalo by se o kontaktní způsob baktericidního nebo bakteriostatického účinku antibiotika [130, 135].

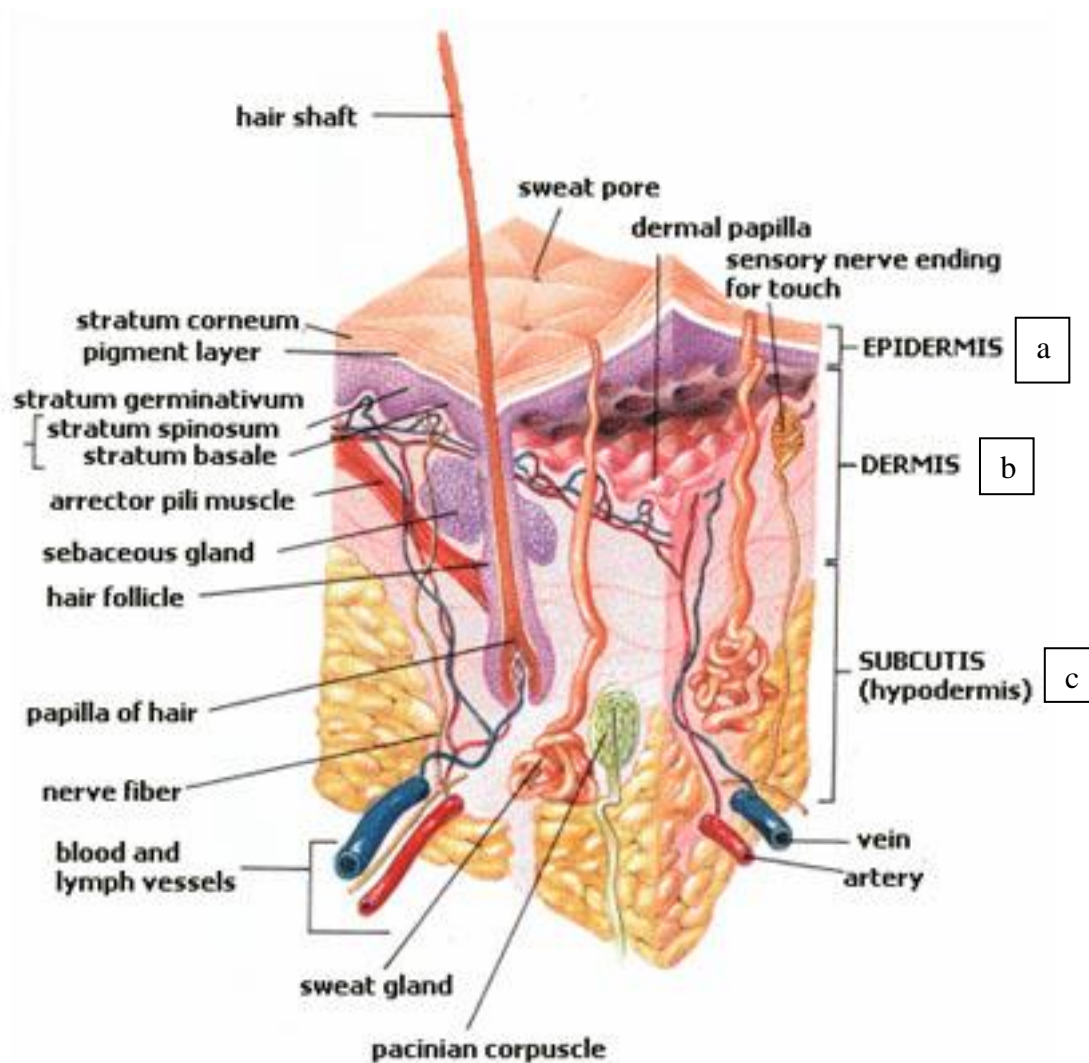
Uvedenou schopnost skýtají nanovláknenné obvazy, jejichž další výhodou je i to, že se nechají stočit, smotat a vpravit do hnisavé „kapsy“ dekubitu nebo jakékoliv rány obr. 24. Protože se tyto obvazy vyrábějí z biodegradabilních látek (chitin, PVA,...), není nutné je z rány odstraňovat a mohou tedy působit lokálně v hnisavém ložisku rány. Takovouto možnost neskýtá žádné současné obvazové krytí.



*Obr. 24 - Příklad současného způsobu tamponování rány klasickým viskózním obvazem – dochází k přisychání obvazu ve spodině rány a zpomaluje se tak celý proces hojení [196].*

#### **5.2.4. Hojení ran**

Fyziologie procesu hojení ran není stále zcela objasněna. Jedná se o složitý biologický proces začínající srážením krve, pokračující katabolickými procesy, které ránu čistí od odumřelé tkáně, cizích těles a choroboplodných zárodků a končící výstavbou nové tkáně, která vyplňuje defekt a časem se přeměňuje v odolnou jizevnatou tkáň. Hojení ran spočívá ve schopnosti kůže regenerovat epitel a obnovovat vazivovou a podpůrnou tkáň. Schematické znázornění jednotlivých složek kůže je na obr. 25.



Obr. 25 - Schéma – řez kůží s jednotlivými vrstvami a) epidermis (pokožka s pokožkovými buňkami), b) dermis (škára), c) subcutis (podkožní vazivo s cévami) [197].

#### 5.2.4.1. Fáze hojení rány a jejich charakteristika

Nezávisle na druhu a rozsahu rány probíhá její hojení v několika fázích, které se časově překrývají, a není je možno od sebe oddělovat.

Obvyklé členění je na tři fáze: (obr. 26)

- a) zánětlivá (exsudativní) fáze k zastavení krvácení a vyčištění rány
- b) proliferační fáze a tvorba granulační tkáně
- c) diferenciační fáze – reepitalizace a reparace k vyžrávání buněk, diferenciaci epitelu a tvorba jizvy



Obr. 26 – Schéma časového průběhu fází hojení ran (1. zánětlivá fáze, 2. proliferační fáze, 3. granulační fáze)

**Zánětlivá fáze** začíná v okamžiku poranění a trvá za fyziologických podmínek asi tři dny. První cévní a buněčné reakce spočívají v zastavení krvácení srážením krve a jsou ukončeny po cca 10 minutách. Asi 2-4 hodiny po vzniku poranění začíná v rámci zánětlivých reakcí migrace leukocytů, které jsou schopny fagocytovat cizorodý materiál a choroboplodné zárodky. V doprovodu granulocytů (typ leukocytů) migrují asi o 24 hodin později do oblasti rány monocyty, které se postupně přeměňují na makrofágy a pokračují ve fagocytóze, sekreci cytokininů a růstových faktorů, které rozhodující měrou zasahují do procesu čištění rány. Tyto růstové faktory jsou polypeptidy, které v mnoha oblastech ovlivňují buňky podílející se na procesu hojení rány (přitahují buňky a podporují jejich migraci do oblasti rány, stimulují buňky k proliferaci a mohou také způsobovat transformaci buněk.

Během **druhé fáze** hojení rány převažuje proliferace buněk s cílem vytvořit nové cévy a vyplnit defekt granulační tkáně. Tato fáze začíná asi 4. den po vzniku rány. Cytokiny a růstové faktory stimulují a regulují migraci a proliferaci buněk, které jsou zodpovědné za novou tvorbu tkáně a cév. Dochází k vyplňování defektu novou tkání, vyvíjí se granulační tkáň, jejíž výstavba je rozhodující měrou iniciována fibroblasty. Ty produkují jednak kolagen, který vyzrává mimo buňky v pevná kolagenní vlákna, jednak také proteoglykany, které tvoří gelovitou základní substanci extracelulárního prostoru. Granulační tkáň je označovaná jako přechodná, primitivní tkáňová jednotka, která ránu definitivně uzavře a slouží jako „lůžko“ pro následnou epitelizaci. Po splnění svých úkolů je postupně přeměňována ve tkáň jizevnatou.

**Třetí fáze** začíná mezi 6. a 10. dnem od poranění vyzráváním kolagenních vláken. Rána se kontrahuje, granulační tkáň se stává chudší na vodu a cévy, zpevňuje se a přeměňuje se v jizevnatou tkáň. Epitelizace, která v sobě zahrnuje tvorbu nových epidermálních buněk mitózou a buněčnou migrací, probíhá přednostně z okrajů rány a poté celý proces hojení rány

zakončuje. Překrytí rány kůží tvoří závěr procesu hojení, přičemž procesy epitelizace jsou velmi těsně spjaté s granulací.

### 5.2.5. Funkce obvazu

Do zhojení rány přejímá obvaz dočasně úlohu kůže. Měl by poskytnout ochranu před mechanickými vlivy (náraz, tření), před znečištěním a iritací chemickými vlivy, ochranu před sekundární infekcí, před vysycháním a ztrátou tělních tekutin o ochranu před ztrátami tepla. Obvaz by měl pozitivně ovlivňovat průběh hojení rány tím, že jí čistí a vytváří vhodné mikroklima. V každé fázi hojení rány má obvaz zajišťovat jinou funkci.

Ve **fázi čištění rány** by měl obvaz z rány odsávat sekret s obsahem bakterií, produktů metabolismu, s obsahem špíny a cizích těles, tedy veškerým odpadem, který nebyl eliminován fagocytózou. Odsáváním exsudátu obvaz podporuje a urychluje hojení rány a slouží k profylaxi infekce. Zároveň ránu chrání před novou kontaminací.

Tvorba **granulační tkáně** je podmíněna přítomností vlhkosti v ráně. Vysychání a přítomnost nadbytečného sekretu narušuje proces hojení rány. Navíc obvaz funguje jako bezpečná ochrana před infekcí, ačkoliv v dobře vyvinuté granulační tkáni se nebezpečí vzniku infekce snižuje.

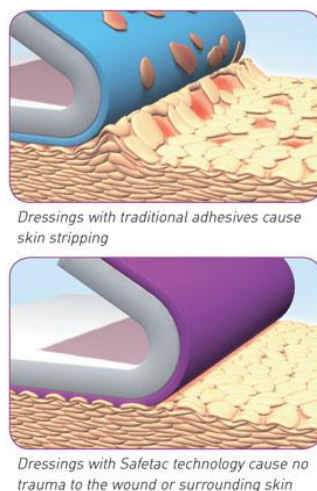
Zralá granulace a vlhká plocha jsou nezbytnými předpoklady pro **epitelizaci**, která je konečnou fází procesu hojení rány. Obvaz musí stále udržovat ránu přiměřeně vlhkou. Pokud se v ráně hromadí nadbytečný sekret, buňky epitelu se nepřichytí. Pokud je rána příliš suchá, vytvoří se krusta, jejíž přítomnost negativně ovlivňuje reepitelizaci, protože epiteliální buňky se musí dostat pod krustu a to vyžaduje delší čas na vlastní hojení rány.

### 5.2.6. Současná dostupná krytí ran

#### 5.2.6.1. Aktuální možnosti obvazového krytí ran

Základní požadavek na obvazové krytí vyžaduje jednoduchou aplikaci a snímatelnost obvazů se zřetelem na nově se tvořící tkáň. Při výměně obvazů dochází k tomu, že buňky nově se tvořícího epitelu se snadno odstraní s krytím, které ránu vysušilo a současně přischlo. Bezpečná snímatelnost a ochrana granulační, resp. epitelizační tkáně skýtají ta krytí, která se podílejí na tvorbě vlhkého prostředí [198, 199]. Firma Molnlycke (Švédsko) patentovala v roce 2011 typ sendvičového krytí, které splňuje náročné požadavky při tvorbě granulační a epitelizační fáze hojení rány. Jedná se krytí prodávané pod obchodním názvem **Mepilex® Border**). Uvedené krytí těsně přiléhá k okrajům rány, čímž je zabráněno šíření exsudátu z rány. Povrch, který přiléhá na ránu, je vytvořen tak, že je rána neustále vlhčená, nedochází

k vytvoření krusty a při výměně obvazu není nově se tvořící epitel strháván. Tato patentovaná technologie představuje velmi výrazný posun k lepšímu a rychlejšímu procesu hojení rány (obr. 27).



*Obr. č. 27 - Horní obrázek - nově se tvořící epitel se snadno odstraní s krytím, které ránu vysušilo a současně přischlo. Dolní obrázek – při výměně obvazu není nově se tvořící epitel strháván [200].*

Nezanedbatelným ukazatelem tohoto obvazu je jeho pořizovací cena, která je velice vysoká, např. 5 ks o rozměrech 6x8 cm stojí 81 dolarů (informace z března roku 2012).

Jako příklad dalšího produktu této firmy uvádím prostředek s obsahem stříbra Mepilex (**Mepilex<sup>®</sup> Ag** feature **Safetac<sup>®</sup>**), kde 5 ks o rozměrech 4x4 cm stojí 80 dolarů (informace z března 2011).

Myslím si, že alternativní možností ve fázi čištění rány a fázi granulační by představovala krytí připravená z nanovláknenných materiálů, na jejichž povrchu jsou imobilizovány bioaktivní látky (antibiotika, enzymy, peptidy,...) [130,135]. Další možností je příprava nanovláken, u kterých jsou bioaktivní látky obsaženy přímo ve zvláknovacím roztoku [130]. Kromě těchto bioaktivních látek by ve fázi čištění rány bylo vhodné použití stříbra (ve formě  $\text{Ag}^+$  - tato forma stříbra má prokazatelné baktericidní účinky). Tento typ obvazu by představoval první vrstvu, která by překryla ránu, včetně jejich okrajů. Další vrstvu tohoto krytí by mohlo představovat běžně používané hydroaktivní atraumatické krytí, které ránu chrání před vysušením a zároveň umožňuje odsávání exsudátu tvořícího se v ráně. Takovéto krytí je složeno z několika vrstev rozdílných materiálů a díky tomu má dobrou absorpční schopnost. Sekret je plošně rozdělován, odstraňován z rány a uchováván v hloubce svého těla. Tyto obvazy jsou prostupné pro vzduch a vodní páry a splňují tím jeden ze základních



požadavků na krytí rány. Příkladem jsou krytí, prodávána pod názvy Zetuvit, Cosmopor steril a Comprigel.

Nevýhodou textilních, savých obvazových látek, jako jsou mulové kompresy nebo kompresy z netkaného textilního rouna, je jejich výrazná tendence ke slepování se s ranou plochou. Aby se zabránilo porušení procesu hojení, musí být krytí na rány atraumatické, tzn., že se ani při dlouhodobějším používání k ráně nelepí a při výměně obvazu nedochází k porušení nově vznikající tkáně. Atraumatickými vlastnostmi krytí na rány je současně umožněna i bezbolestná výměna obvazu. U textilních, savých obvazových látek se atraumatických vlastností dosahuje hydrofobní impregnací např. mastmi (mast'ové kompresy) nebo navrstvením gelu.

Obvaz musí dále splňovat bezpečnou aplikaci, prostupnost pro plyny a v kombinaci s vhodným hydroaktivním atraumatickým krytím je tak zajištěna snášenlivost obvazu pro pacienta, savost a sorpční kapacita. Příkladem takového krytí je TenderWet, který výrazně podporuje tvorbu granulační fáze. Jedná se o savý polštářek ze superabsorpčního polyakrylátu, který se před použitím aktivuje Ringerovým roztokem (jedná se o izotonický roztok, který obsahuje ionty sodíku a chloru, navíc pak ionty draslíku a vápníku, čímž je bližší složení krevní plasmy). Ringerův roztok je pak po dobu 12 hodin průběžně uvolňován do rány. Permanentním přísunem Ringerova roztoku se aktivně změkčují a rozpouštějí nekrózy, současně se savým tělesem přijímá exsudát a na ránu by tak mohly přímo působit navázané bioaktivní látky na nanovlákněném obvazu a podpořit tím proliferaci buněk a urychlit celý proces hojení ran. Nevýhodou je opět poměrně vysoká cena, kompres TenderWet 24 Active Cavity (obr. 28) o rozměrech 5,5 cm x 5,5 cm (10 ks v balení) stojí 1073,-Kč (cena z března 2012), např. VZP nehradí celou částku.

[zdravotnicke-potreby.net](http://zdravotnicke-potreby.net)

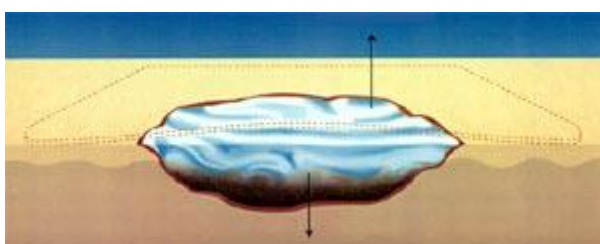


*Obr. 28 - Příklad současného krytí ran prodávané pod názvem TenderWet [201].*

### 5.2.6.2. Další možnosti obvazového krytí ran

Dále uvádím několik dalších příkladů obvazového krytí, které můžeme rozdělit do několika skupin podle jejich funkce. Tyto typy obvazů jsou vhodné jako sekundární krytí ran po aplikaci nanovláknenných obvazů k zajištění vlhkosti v ráně a k odstraňování exsudátu z rány.

**Hydrogely** obsahují hydrofilní polymery s vysokým obsahem vody autolyticky odstraňují nežádoucí nekrotické a fibrinové povlaky, rehydratují ránu, vytvářejí vhodné mikroklima a nepoškozují zdravé tkáňové buňky. (obr. 29).



Obr. 29 - Působení hydrogelů na ránu [202].

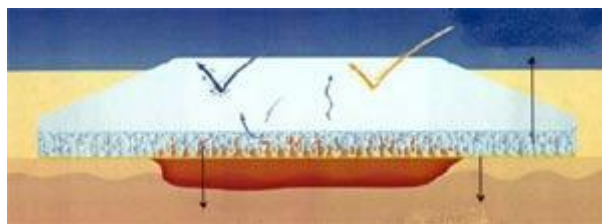
**Hydrokoloidy** obsahují vnější oklusivní vrstvu, která je nepropustná pro plyny, vodní páry a vnitřní hydrokoloidní vrstvu (pektin, želatina, karboxymethylcelulóza). Vytváří hypoxické prostředí s nízkým pH a povzbuzuje angiogenezi a granulaci (obr. 30).



Obr. 30 - Působení hydrokoloidů [202].

**Polyuretanové pěny** obsahují vnější vrstvu, která je semipermeabilní a vnitřní vrstvu tvořenou vysoce absorpčním jádrem. Zajišťují absorpci sekretu, aniž by zkapalněly, vhodné mikroklima a stimulaci čištění rány. Neulpívají na spodině rány (obr. 31).





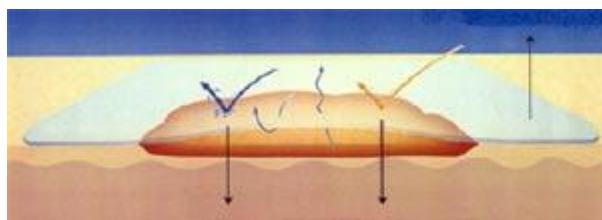
Obr. 31 - Působení polyuretanové pěny [202].

**Algináty** obsahují vysoce absorpční alginátová vlákna z hnědých mořských řas. Ionty vápníku nebo draslíku, které jsou součástí alginátu, nahradí ionty sodíku, přítomné v exsudátu a umožní přeměnu alginátových vláken v hydrofilní neadherentní gel. Mají bakteriostatický a hemostatický účinek, vytváří mikroklima. Mají vysokou absorpční schopnost. (obr. 32).



Obr. 32 - Působení alginátů [202].

**Filmová krytí** jsou tvořena z průhledného selektivně propustného polyuretanového filmu a akrylátového hypoalergenního lepidla, které vytváří v ráně vhodné mikroklima pro fyziologické hojení rány. Působí jako antibakteriální bariéra – propouští plyny a vodní páry, nepropouští bakterie a vodu. Krytí je průhledné a tím umožňuje monitorovat ránu (obr. 33).



Obr.33 - Filmové krytí [202].

Distribucí a výrobou obvazů se zabývají firmy Johnson&Johnson, Hartmann, americká firma Smith&Nephew, Bioster s.p., Viacell s.r.o., Hydro-sorb, Laboratoires Urgo s.a. Francie, Malkol CZO spol. s.r.o, atd.

### **5.3. Biodegradabilní nanovláknna jako nosiče bioaktivních látek**

Celá řada nanovláken je vzhledem ke svým vlastnostem určena pro aplikace v medicíně. Jedná se zejména o jejich použití jako obvazový materiál, jehož primárním úkolem je čištění rány od bakteriálních infekcí a nastolení procesu epitelizace a granulace rány (kapitola 5.2.4.1.)

Další možností nanovláknenných materiálů je jejich aplikace ve tkáňovém inženýrství. Jedná se o interdisciplinární obor, který vznikl sloučením oblastí buněčné biologie, inženýrství, materiálové vědy, chirurgie a vhodných biochemických faktorů s cílem zlepšit nebo opravit biologické funkce [203].

V současné době probíhá řada výzkumů v oblasti opravy nebo náhrady např. kostí, chrupavek, cév, močového měchýře, šlach, atd.

Základní podmínkou pro biomedicínské aplikace je biodegradabilita polymeru, ze kterého se nanovláknna připravují. Tento požadavek splňují například nanovláknna z chitosanu, křemičitá nanovláknna (pouze ta, která byla tepelně stabilizována při teplotě 180 °C), kyselina hyaluronová, směs PVA/chitosan, kopolymer kyseliny mléčné a glykolové (PLGA) nebo vodorozpuštěné biokompatibilní polymery s vhodnými funkčními skupinami, např. poly(ethylenglykol) diakrylát [204]. Velmi důležitými vlastnostmi jsou také porozita, velký měrný povrch, orientace vláken a způsob přípravy (snadnost, cena).

#### **5.3.1. Anorganická nanovláknna**

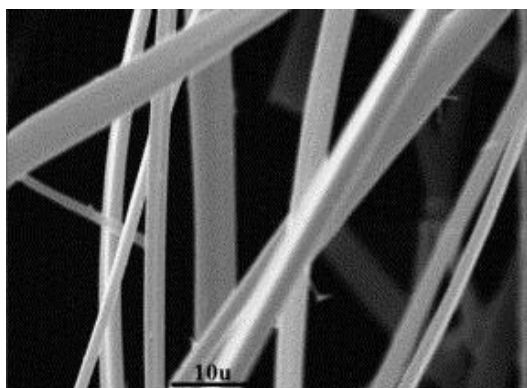
Křemičitá nanovláknna jsou velmi vhodným substrátem pro imobilizaci bioaktivních látek nebo iontů kovů s antibakteriálním účinkem. Mechanické vlastnosti těchto nanovláken jsou velmi vhodné pro použití jako krycí a obvazový materiál pro lékařské účely.

Jak vyplývá ze studie [205], anorganická nanovláknna připravená z SiO<sub>2</sub>, by měla mít schopnost opakovaně krýt ránu. Studie potvrdila, že SiO<sub>2</sub> nanovláknna jsou velmi měkká a pružná, mohou být pohodlně tkána do vzorované netkané textilie (na požadovaný tvar podle velikosti rány).

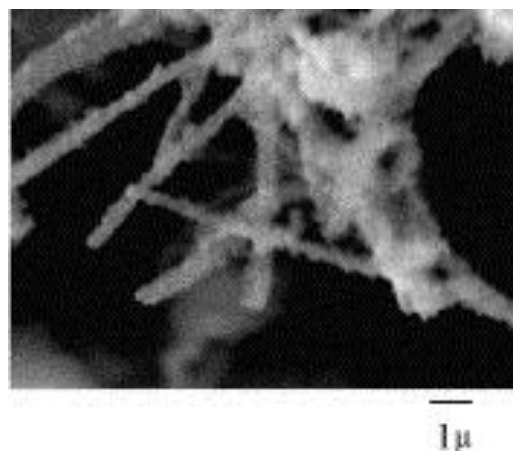
Nedávno vyvolala velký zájem biokompatibilní polymerní nanovláknna určená na krytí ran [206 - 211], která mají obrovský měrný povrch, což je výhodné pro regeneraci poškozené kůže. Nanovláknna s obsahem stříbra mají účinné a široké spektrum antibakteriálních schopností s minimální cytotoxicitou na lidské buňky [212 - 216]. Obdobný efekt vykazují i nanovláknna s přídavkem nanočástic stříbra [217 - 219].

$\text{SiO}_2$  je druh anorganického materiálu aplikovatelného v mnoha oblastech [220 - 223] a to zejména vzhledem k jeho relativně snadné přípravě, hydrofilním vlastnostem, fyzikální a chemické stabilitě, dobré biokompatibilitě, atd. [224]. V poslední době bylo provedeno mnoho studií  $\text{SiO}_2$  v biologických aplikacích [225, 226]. Feng s kol. [225], je použili jako substrát pro kultivaci buněk. Zjistili, že buňky vaječníků čínských křečků CHO-K1 a lidské buňky HepG2 rostly na tomto nanovlákněm substrátu mnohem rychleji v porovnání s jinými typy nanovláken.

Výrobou křemičitých nanovláken se zabývali ve své práci z roku 2005 Zhang a kol. [227]. Jejich cílem bylo připravit nanovlákná pro vesmírné aplikace. Vyráběli nanovlákná oxidu křemičitého a jejich povrch pokrývali nitridem hliníku (AlN) pro získání tepelné stability. Pro získání vlastních nanovláken oxidu křemičitého využívali dva způsoby. Prvním bylo elektrostatické zvláknění přímo roztoku na bázi tetraethoxysilanu (obr. 34). Druhý způsob byl založen na elektrostatickém zvláknění roztoku polyamidu-6 a následným povrstvením vrstvou oxidu křemičitého za pomoci metody sol-gel. Tepelným rozkladem byl poté odstraněn polymer polyamidu-6. Výsledná nanovlákná oxidu křemičitého měla hrubý povrch a průměr 100 až 200 nm (obr. 35).



*Obr. 34 - Nanovlákná  $\text{SiO}_2$  vyrobena zvlákněním polymerního roztoku tetraethoxysilanu. [227].*



*Obr. 35 - Nanovlákná nylon-6 převrstvená oxidem křemičitým a tepelně zpracovaná. [227].*

#### **5.3.1.1. Křemičitá nanovlákná s antibakteriálním účinkem**

Zdravotnické textilie jsou rychle se rozvíjející oblastí textilního průmyslu. Tento růst je připisován neustálému zdokonalování a inovacím v oblastech textilních technologií a lékařských postupů.

V medicínské oblasti jsou nanovlákná díky velkému měrnému povrchu populární pro řízené dávkování léčivých látek. Látky mohou být uvolňovány z nanovlákněných obvazů různými

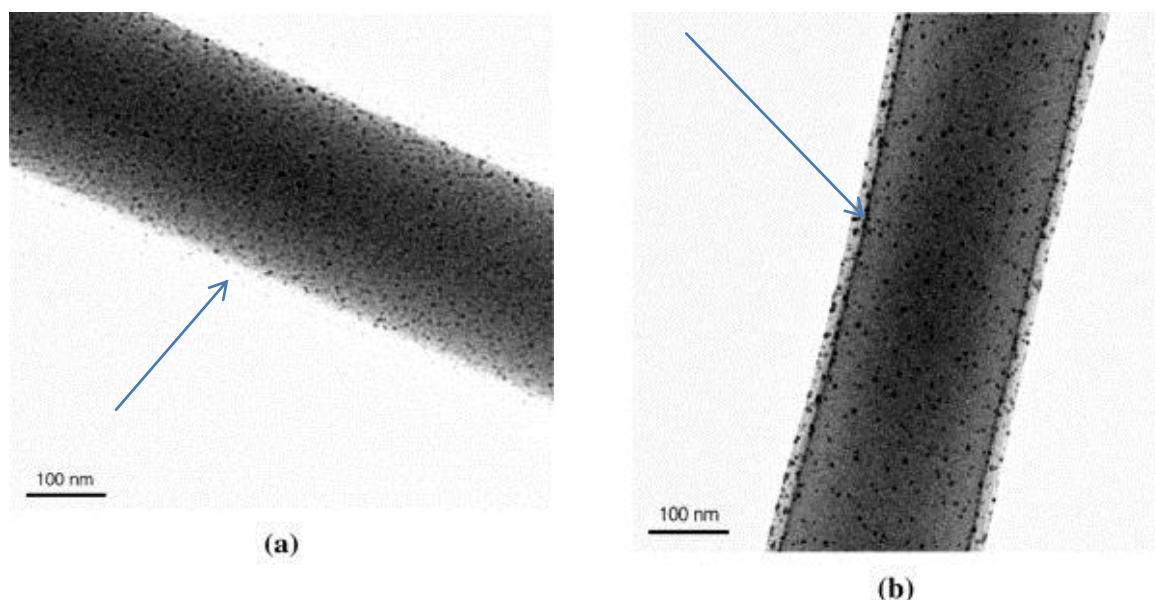
rychlostmi sledovanými v závislosti na čase. To je dáno morfologií nanovláken a druhem imobilizovaného léčiva [228].

Yang a kol. [229] vyrobil pomocí elektrostatického zvlákňování ultrajemná PAN vlákna obsahující nanočástice stříbra.

Son a kol. [230] připravil pomocí elektrostatického zvlákňování nanovlákn CA (acetátu celulózy) s nanočásticemi stříbra. Ve zvlákňovaném roztoku byl použit  $\text{AgNO}_3$  a vyrobená nanovlákn byla fotoredukována UV zářením. Autoři zjistili, že stačí velmi malé množství  $\text{AgNO}_3$  ( $>0,05$  % hmotn.) a vlákna vykazují velmi silné antibakteriální účinky.

Jiným vyzkoušeným postupem vedoucím k tomu, aby výsledná nanovlákn obsahovala nanočástice stříbra, je rozpuštění  $\text{AgNO}_3$  v PVP za pomoci DMF a následné zvlákňování takto připraveného roztoku. Tento roztok lze dále smíchat s dalšími polymery mísitelnými s PVP. Například byl úspěšně zvlákňován vodný roztok PVA s 5 % hmotn. výše uvedeného PVP obsahujícího nanočástice stříbra [231].

Hong a kol. [232, 233] prováděli experimenty se zvlákňováním vodného roztoku PVA/ $\text{AgNO}_3$  a výsledná vlákna zpracovávali tepelně ( $155^\circ\text{C}$ , 3 min) a pomocí UV záření (UV-A, 315 až 380 nm, 10 W, 3 hod). Bylo pozorováno, že nanočástice stříbra se vytvářejí v blízkosti povrchu a na povrchu vyrobených nanovláken (obr. 36).



r. 36 - TEM snímky tepelně zpracovaných nanovláken PVA/ $\text{AgNO}_3$  (a) a nanovláken PVA/ $\text{AgNO}_3$  zpracovaných tepelně i UV zářením (b) [233].

Tepelné zpracování i UV ozařování redukovalo ionty  $\text{Ag}^+$  ve vyrobených nanovlákních na nanočástice stříbra. Tepelné zpracování navíc zlepšilo krystalinitu vlákenné vrstvy PVA a tím způsobilo nerozpustnost těchto vláken ve vlhkém prostředí. Na základě těchto provedených experimentů bylo konstatováno, že nanovlákní PVA/ $\text{AgNO}_3$  zpracovaná pouze tepelně jsou vhodným materiálem pro zdravotnické (konkrétně obvazové) materiály. Kromě stability struktury ve vlhkém prostředí vykazují také výbornou antibakteriální účinnost a efektivitu uvolňování účinných látek ( $\text{Ag}^+$  ionty) obr. 57. [233]

Vyrobená (jen tepelně zpracovaná) nanovlákní byla podrobena antibakteriálním testům účinnosti proti *St. aureus* (ATCC 6538P) a *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 4352) podle standardních metod [234].

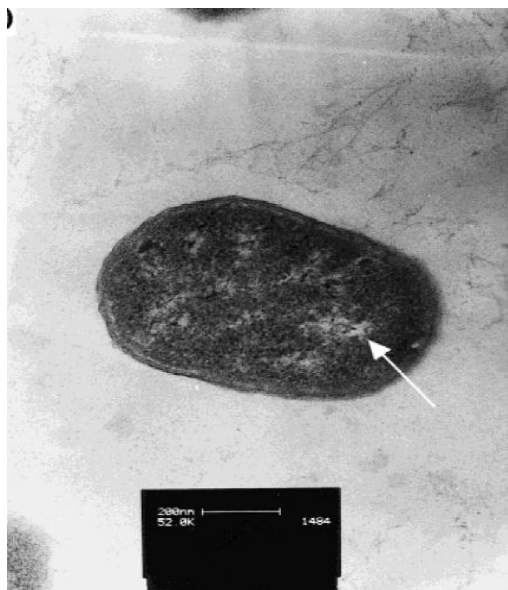
#### **5.3.1.2. Mechanismy účinků stříbra na bakteriální buňku**

Ionty stříbra ( $\text{Ag}^+$ ) a příměsi stříbra (neagregované atomy nebo agregované nanočástice) jsou velmi populární v biomedicínské oblasti například pro obvazové materiály, tkáňové inženýrství, antimikrobiální filtry atd. Bylo zjištěno, že mikroorganismů odolných proti stříbru je velmi málo. Stříbro deaktivuje bakterie následujícími mechanismy: [232, 235]

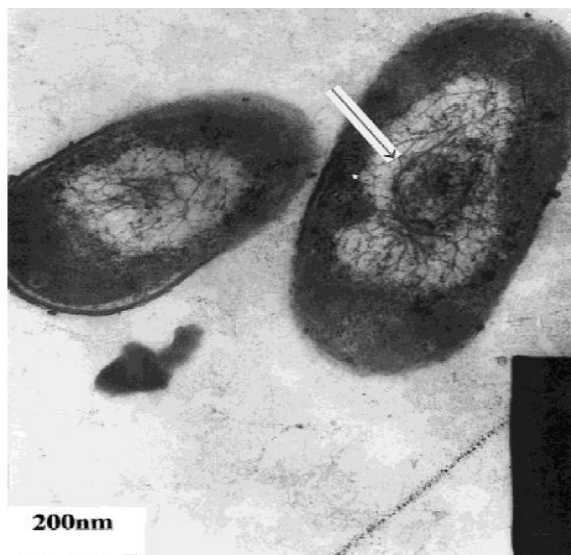
1. Stříbro interaguje s enzymy a proteiny důležitými pro funkci mitochondrie (rep. dýchacího řetězce) a pro transport důležitých substancí přes buněčnou membránu a uvnitř buňky.
2. Stříbro interaguje s DNA a tím brání její replikaci a následnému dělení bakteriální buňky.
3. Ionty stříbra se vážou na buněčnou stěnu bakteriální buňky a tím mění funkčnost cytoplazmatické membrány.

Feng a kol. [236] studovali morfologické a strukturální změny bakterií *E. coli* (ATCC 23282) a *St. aureus* (ATCC 35696) po aplikaci iontů stříbra. Jejich experiment potvrdil, že obrannou reakcí na ionty stříbra jsou molekuly DNA uvnitř bakteriální buňky zhuštěny, čímž se zamezí dělení buněk – nastává bakteriostatický efekt. Zároveň ionty stříbra reagují s proteiny bakterií a způsobují jejich deaktivaci. Jednotlivé efekty vlivu stříbra na bakteriální buňku *E. coli* dokumentují níže uvedené snímky (obr. 37 a obr. 38).



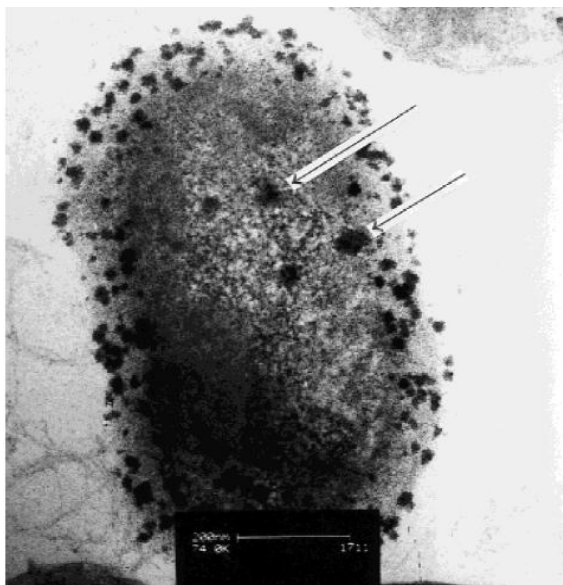


Obr. 37 - TEM snímek *E. coli* bez aplikace  $\text{Ag}^+$ , šipka ukazuje rovnoměrné rozložení DNA (světlá místa) [236].

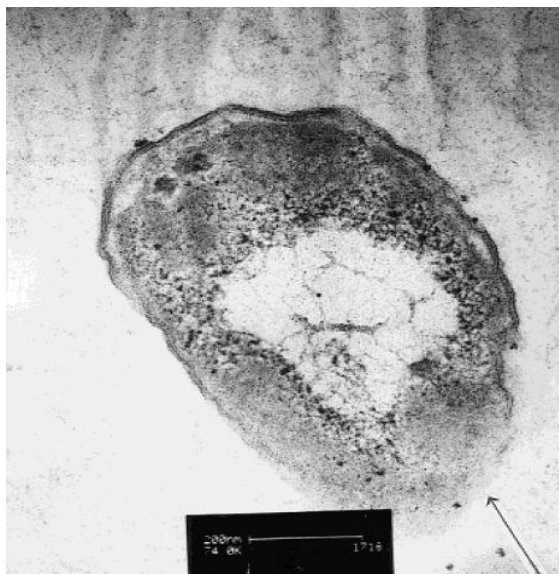


Obr. 38 - TEM snímek *E. coli* po aplikaci  $\text{Ag}^+$ , šipka ukazuje zhuštění DNA („smotaný drát“ uvnitř světlého místa) [236].

Aplikace iontů  $\text{Ag}^+$  způsobila zhuštění DNA, což potlačuje schopnost její replikace a následné množení bakteriální buňky (obr. 39). Jedno z posledních stadií života buňky je neexistence buněčné stěny nahrazené shluky nabitých částic (obr. 40). Na obrázku je viditelné poničení buněčné stěny a shluky nabitých částic uvnitř buňky obklopující a smršťující oblast s DNA, přičemž zároveň dochází k reakci s proteiny.



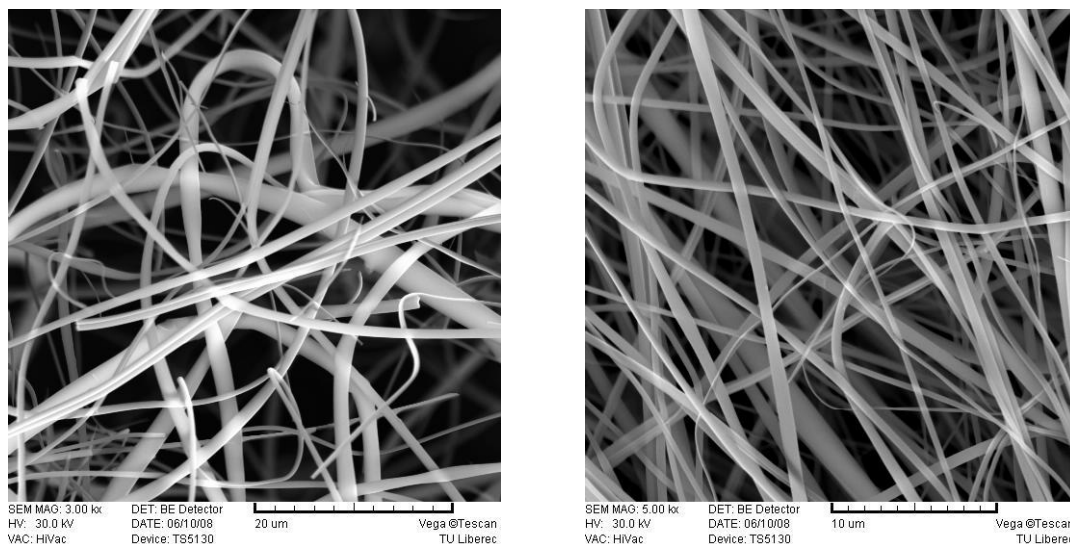
Obr. 39 - TEM snímek *E. coli* po aplikaci iontů  $\text{Ag}^+$ , šipka ukazuje granule (shluky nabitých částic) místo neexistující buněčné stěny [236].



Obr. 40 - TEM snímek *E. coli* po aplikaci  $\text{Ag}^+$ , šipka ukazuje značně poničenou buněčnou stěnu, nastává apoptóza bakteriální buňky [236].

### 5.3.1.3. Testy zdravotní nezávadnosti křemičitých nanovláken

Na připravených nanovláčknech oxidu křemičitého (připraveny na KCH TU v Liberci – postup přípravy publikován v disertační práci [237]). Byly sledovány jejich základní vlastnosti, jako je měrný povrch, teplotní odolnost a hlavně rychlost rozpouštění v simulované plicní tekutině v závislosti na teplotě tepelného zpracování (obr. 41). Připravená nanovláčka bez změny morfologie vydržela teplotu zahřátí 850 °C.



Obr. 41 - Textura křemičitých nanovláken z různých míst produktu [237].

Anorganická nanovláčka jsou obecně podezřelá z karcinogenních účinků po vdechnutí. Jak potvrdily výsledky zkoušek na Ústavu skla a keramiky VŠCHT Praha (2008), rozpustnost nanovláken v simulované plicní tekutině velmi silně závisí na teplotě jejich tepelného zpracování. Byla testována nanovláčka zpracovaná při teplotě 180 °C, která se rozpouští nejrychleji a jsou tedy řazena do oblasti bezpečných rychlostí rozpouštění. Nanovláčka tepelně zpracovaná při teplotách 450 a 650 °C se rozpouští výrazně pomaleji a jsou v oblasti spodní hranice bezpečných rychlostí rozpouštění. Na nanovláčka tepelně zpracovaná při 850 °C je nutné pohlížet jako na potenciální karcinogeny. K úplnému vyloučení zdravotních rizik by tedy bylo nutné ověřit jejich biopersistenci pomocí testů „in vivo“.

Výsledky testů z Ústavu skla a keramiky VŠCHT Praha shrnuje tab. 9.

Tab. 9 - Rychlosti rozpouštění nanovláken vláken oxidu křemičitého. (Byla sledována rychlost rozpouštění nanovláken  $R_c$  [ $\text{ng.cm}^{-2}.\text{h}^{-1}$ ] (měření koncentrace  $\text{SiO}_2$  v roztoku)).

vzorek	rychlost rozpouštění [ $\text{ng.cm}^{-2}.\text{h}^{-1}$ ]
180°C počáteční rychlost	69.6
(180°C konečná rychlost)	(16.9)
450°C	23.8
650°C	17.1
850°C	5.0

Rychlosti rozpouštění neextrahovaných nanovláken oxidu křemičitého se pohybují na spodní hranici nutné pro jejich rychlé odbourávání v plicních tekutinách. V případě vláken zbavených znečištění organickými látkami extrakcí a testovaných, nikoliv ve formě smotků, ale tenké vrstvy, dochází naopak k jejich úplnému rozpuštění již po sedmi dnech v simulované tělní tekutině.

Toto zjištění je velice důležité pro aplikace těchto typů nanovláken jako krycí a obvazový anorganický materiál, případně jako materiál, sloužící pro pěstování tkáňových kultur. Schopnost rychlé biodegradability je velice výhodná právě u obvazů, protože se obvaz, aplikovaný na ránu nemusí odstraňovat a nově se tvořící buňky mohou proliferovat a „startovat“ tak granulační fázi hojení rány.

#### 5.3.1.4. Antibakteriální testy

Připravená nanovláken oxidu křemičitého s obsahem stříbra nebo dodatečnou aplikací stříbra na nanovláknennou vrstvu byly podrobeny antibakteriálním testům. Jako srovnávací materiál byly voleny vzorky z bavlny a viskózy, tj. materiálů, které jsou ve zdravotnictví běžně používány (především jako běžný obvazový materiál, absorpční krytí pro sekretující rány a další).

První série antibakteriálních testů byla prováděna v Krajské Nemocnici v Liberci. Testy byly prováděny od roku 2005. V této době nebyla vybudovaná mikrobiologická laboratoř na KCH TU v Liberci, proto byla uzavřena dohoda o spolupráci s Krajskou Nemocnicí v Liberci - oddělení klinické mikrobiologie a virologie.

Tyto první testy nebyly uskutečněny dle žádné standardní normy, protože v té době nebyly k dispozici ucelené propozice k tomuto způsobu testování textilií. Zvolila jsem po konzultacích s bakteriologem metodu, která měla vypovídající hodnotu o antibakteriálním účinku testovaného materiálu. Množství bakteriálního inokula očkovaného na Petriho misku bylo 1 ml o koncentraci  $10^3$  CFU/ml. Vzorky testovaného materiálu byly inkubovány



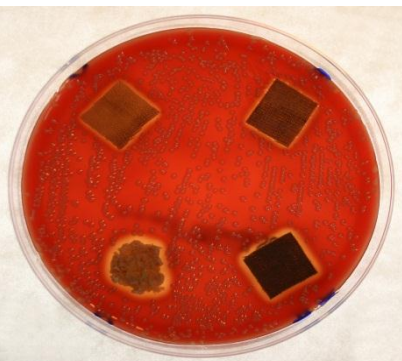



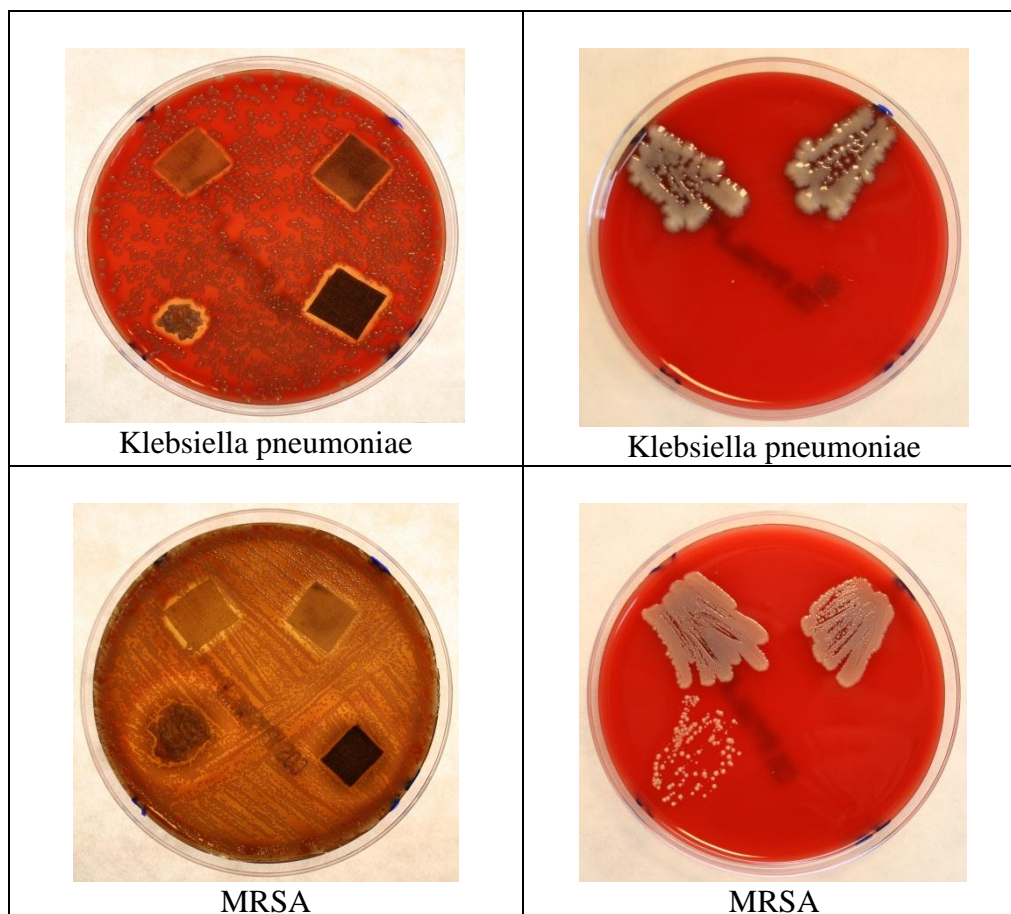
standardním způsobem (24 hod. při 37 °C v termostatu). Byla hodnocena velikost halo zón a stěry spodiny. Stěry spodiny byly zhotoveny tak, že testovaný materiál byl po 24 hodinách opatrně sejmut a bakteriologickou kličkou bylo místo kontaktu setřeno (obr. 42) a zaočováno na Periho misku s krevním agarem. Výsledky stěru spodiny byly hodnoceny opět po 24 hodinách inkubace v termostatu při 37 °C.

Pro ilustraci (obr. 42) níže uvádím kromě křemičitých nanovláken s obsahem stříbra několik dalších příkladů různého materiálu, který jsem testovala na 4 vybraných patogenních bakteriálních kmenech.

Legenda:

1. Bavlna upravená sol-gel metodou s obsahem stříbra (KCH TU v Liberci).
2. Fotochemicky upravená bavlna (vzorek dodán Doc. Ing. J. Wienerem, Ph.D. z KTC TU v Liberci).
3. Křemičitá nanovlákná s přídavkem stříbra do solu (KCH TU v Liberci).
4. Viskóza upravená sol-gel metodou s obsahem stříbra (KCH TU v Liberci).

<u>INKUBOVANÉ VZORKY</u>		<u>STĚR SPODINY</u>	
4.	1.	4.	1.
			
3.	2.	3.	2.
			
Pseudomonas aeruginosa		Pseudomonas aeruginosa	
Acinetobacter baumannii		Acinetobacter baumannii	



Obr. 42 - Halo zóny a stěry spodiny u vybraných bakteriálních kmenů (zdroj Šlamborová)

Těmito prvními testy byla prokázána antibakteriální účinnost připravených vzorků. Z velikosti halo zón v okolí testovaného vzorku a z výsledků stěru spodiny lze jednoznačně usuzovat na míru antibakteriálního účinku testovaného materiálu. U některých vzorků jsou u stěru spodiny viditelné jednotlivé bakteriální kolonie (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*) nebo kompaktní bakteriální růst (*Klebsiella pneumoniae*, MRSA), což svědčí o schopnosti inhibice konkrétního testovaného materiálu. Pro pokračování dalších testů byl rozhodující antibakteriální účinek nanovláken se stříbrem na vybrané bakteriální kmeny, který byl jednoznačně vynikající.

Další série testů byla provedena na křemičitých nanovlákních, na jejichž povrch bylo stříbro dodatečně aplikováno. Mechanické vlastnosti tohoto materiálu nebyly dobré, nanovlákně byla velice křehká a lámala se.

Vybrané výsledky na dvou bakteriálních kmenech *E. coli* a *St. aureus* jsou dokumentovány na obr. 43.

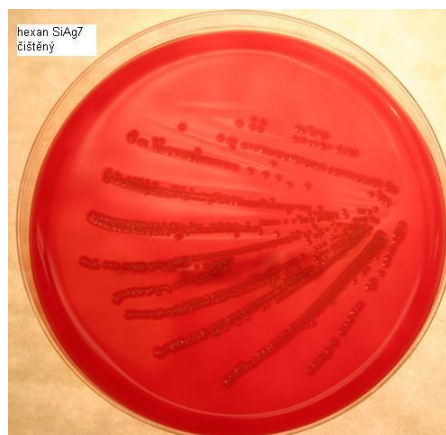
Při vzájemném srovnání antibakteriálního účinku nanovláken s přidavkem stříbra do solu a nanovláken s dodatečnou aplikací stříbra (resp.  $\text{AgNO}_3$ ) na nanovláknennou vrstvu lze

konstatovat, že antibakteriální účinek nanovlákněné vrstvy s přídavkem stříbra do zvláknovacího roztoku je mnohem lepší. U nanovláken s dodatečnou aplikací  $\text{AgNO}_3$  je antibakteriální účinek je zanedbatelný. Výsledky jsem odpřednášela na několika konferencích (Dermatologické sympozium Ostrava, 2006, IV. Novoveské dermatologické dny – Ostrožská Nová ves, 2007 a Dermatologické sympozium Liberec, 2007).

### *Escherichia coli*

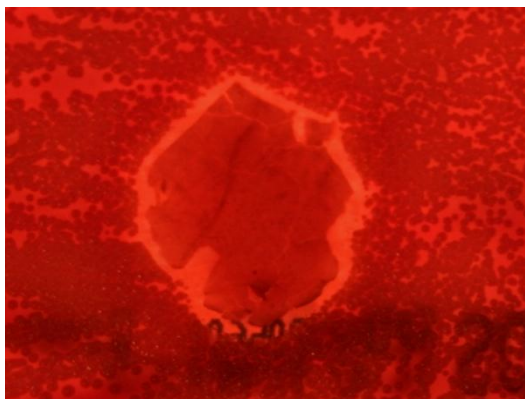


Detail halo zóny – v okolí vzorku je halo zóna velmi malá – minimální antibakteriální účinek.

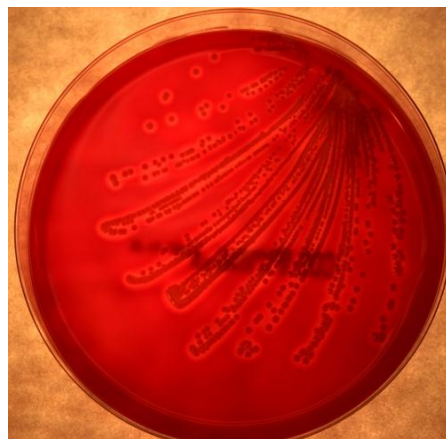


Stěr spodiny – malý inhibiční účinek, kompaktní růst bakteriálních kolonií.

### *Staphylococcus aureus*



Detail halo zóny – v okolí vzorku je halo zóna malá, inhibiční efekt je znatelný, halo zóna je čistá, bez bakteriálních kolonií.



Stěr spodiny – malý inhibiční účinek, kompaktní nárůst bakteriálních kolonií.

Obr. 43 - Nanovláknina s dodatečnou aplikací stříbra na povrchu (zdroj Šlamborová)

### 5.3.2. Organická nanovlákná

#### 5.3.2.1. Chitosanová nanovlákná

Chitin, druhý nejhojnější přírodní polysacharid, je syntetizován mnoha živými organismy. Chitin se vyskytuje v přírodě v mikrofibrilách, je hlavní stavební složkou exoskeletů členovců, buněčných stěn hub a kvasinek. Hlavní komerční zdroje chitinu jsou schránky mlžů, plžů a hlavonožců. Vzhledem k tomu, že chitin nelze snadno rozpustit v běžných rozpouštědlech, přeměňuje se často na více deacetylovány derivát, chitosan [238 - 240].

Chitosan je často identifikován svými stupni deacetylce (DD), procento měření volných aminových skupin podél hlavního řetězce chitosanu [241]. Chitosan je rozpustný v kyselém, neutrálním i alkalickém prostředí, dá se tak použít více než chitin v široké škále aplikací. Chitin a chitosan jsou biokompatibilní, biodegradabilní, netoxické, antibakteriální a hydratační látky. Obě látky se snadno zpracovávají na gely [242 - 245], nanovlákná [246, 247], korálky [248], mikročástice [249], nanočástice [250], skelety [251, 252] a houby [253, 254]. Existuje celá řada slibných aplikací tenkých nanovrstev a vláken na bázi chitinu / chitosanu [239, 240, 255].

Nanovlákná jsou velmi zajímavá pro různé druhy aplikací, mají vysoký specifický povrch a vysokou pórovitost. Nanovlákná obsahující chitin a chitosan mají potenciální využití v oblastech jako je filtrace, léčiva, zubní lékařství, tkáňové inženýrství, katalyzátory a enzymové nosiče, hojení ran, ochranné oděvy, kosmetika, biosenzory a zdravotnické implantáty [256, 257]. Kompozitní nanovlákná chitosanu byla vyrobena za použití syntetických biologicky rozložitelných polymerů jako je poly (vinyl-alkohol) [258, 259], poly (ethylenoxid - PEO) [260], poly (vinyl pyrrolidin - PVP) [261], poly (kyselina mléčná - PLA) [262, 263]. Autoři dále uvádí, že chitosanová kompozitní nanovlákná získala vlivem přísad PVA, PEO, PLA, PVP a PET mnohem lepší mechanické, biokompatibilní, antibakteriální a další vlastnosti. Vlákná se dají využít pro celou řadu aplikací, jako jsou biomedicínské kostní implantáty [256, 264, 265] nebo umělé orgány [266].

PEO jako biokompatibilní polymer [267], byl již použit v podobě obvazového materiálu nebo na opravy chrupavčitých tkání [268, 269].

V textilním a plastikářském průmyslu se používá PET, jehož antibakteriální vlastnosti jsou široce studovány [270 - 272]. Autoři uvádějí, že chitosan / PET nanovlákná jsou velmi vhodná pro medicínské aplikace. Chitosan / PET a chitin / PET nanovlákná byla připravena



z roztoku TFA/ HFIP. Studie antibakteriální aktivity prokázaly, že chitosan / PET nanovlákná inhibují růst bakterií mnohem efektivněji, než čistý PET.

Deriváty chitosanu (karboxymethyl, karboxyethyl a hexanoyl chitosan) [262, 273, 274] byly s velkým úspěchem použity pro přípravu nanovláken. Hexanoyl chitosan byl testován pro lékařské aplikace, kde byla prokázána odolnost vůči hydrolýze lysosomů [275] a jeho anti-trombotické vlastnosti [276].

Pro imobilizace enzymů byla vyvinuta nanovláknenná chitosan/ PVA membrána [277]. Membrána byla použita jako podpora pro imobilizaci lipázy. Účinnost lipázy byla zachována na 49,8 %. Stabilita imobilizovaných lipáz, teplota, opakované použití i skladování neměly vliv na jakékoliv změny. Z výsledků vyplývá, že nanovláknenné chitosanové membrány jsou biokompatibilní, je možné použít je pro imobilizaci enzymů. Uvedený systém je možné použít také pro aplikace biosenzorů.

#### **5.3.2.1.1. Chitosanová nanovlákná jako obvazy**

Deriváty chitosanu s kvartérními amoniovými skupinami, mají vysokou účinnost proti bakteriím a plísním. Cílové místo těchto kationtových polymerů jsou cytoplazmatické membrány bakteriálních buněk [278]. Mikro a nanovláknenné materiály, jsou vhodné pro přípravu obvazů. Foto-síťovaná elektrostaticky zpracovaná nanovlákná obsahující QCS účinně inhibují růst gram-pozitivních a gram-negativních bakterií [261]. Výsledky naznačují, že síťovaná QCS / PVP nanovlákná se mnohou stát slibnými materiály pro obvazy. Dobrý baktericidní účinek vykazují zejména proti gram-negativní bakterii E. coli a gram-pozitivní bakterii St. aureus [279]. Nejlepší biomateriály určené pro obvazy na rány by měly být biokompatibilní a podporovat růst vrstev dermis a epidermis.

#### **5.3.2.2. Nanovlákná s imobilizovanými léčivy**

Nanovlákná byla také použita pro aplikace léčiv. Bylo zjištěno, že je lze velmi snadno implementovat pomocí elektrostatického procesu a vysokého-přiloženého napětí používaného v elektrostatickém procesu, které nemá na léčiva vliv. Vysoký specifický povrch a krátká pasáž difúzní délky dává systému nanovláknno-léčivo celkově vyšší rychlost uvolňování. Profil uvolňování může být jemně řízen modulací nanovláknenné morfologie, pórovitostí a složením. Nanovlákná pro uvolňování léčiv jsou systémy pocházející především z biologicky rozložitelných polymerů, jako je PVA, PLA, PEO, PCL, PEG, PLGA a chitosan.

[280] vyvinuli nanovlákná PEG-g-chitosan s PLGA s inkorporovaným ibuprofenem připravená elektrostaticky pro kontrolovanou aplikaci léků. Přítomnost PEG-g-chitosanu výrazně zmírnila rychlost uvolňování ibuprofenu při elektrostatickém zpracování PLGA membrány. Ibuprofen má konjugované postranní řetězce a z PEG-g-chitosanu se postupně uvolňoval po dobu delší než 2 týdny. **Tyto výsledky ukazují na to, že chitosanová nanovlákná by mohla být užitečná právě pro řízenou aplikaci léků.**

## ***5.4. Vlastní experimenty a výsledky***

### **5.4.1. Imobilizace antibiotik a enzymů na vybrané typy nanovláken**

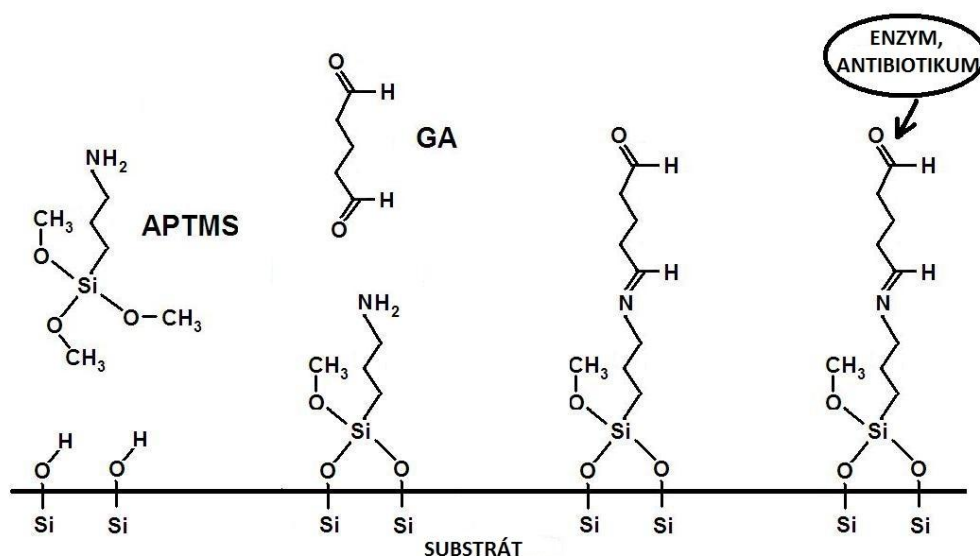
Díky stále větším problémům, se kterými se potýká současná dermatologie při léčbě dekubitů, bércových vředů nebo těžce se hojících ran, jsem se zabývala možností vytvořit krycí a léčebný materiál, který by tyto problémy pomohl řešit. Na základě konzultací na KNT FT TU v Liberci byly vytvořeny nanovláknenné obvazy s imobilizovanými bioaktivními látkami. Bioaktivní látky (antibiotika, enzymy) jsem imobilizovala na tři typy nanovláknenných substrátů (chitosan + PEO, PVB nanovlákná a křemičitá nanovlákná). Primárně byl studován antibakteriální účinek imobilizovaných antibiotik na široké spektrum patogenních bakterií, které činí problémy v dermatologii.

V první fázi byly účinky vytvořených obvazů analyzovány v laboratorních podmínkách, v současnosti byla navázána spolupráce s dermatoložkou MUDr. M. Štrinclovou (Nemocnice Semily), s praktickým lékařem MUDr. Alexandrem Otaševičem (Nemocnice Ostrava-Poruba), který má krom jiného na starosti dva domovy seniorů, další spolupráce je navázána s několika veterinárními lékaři a s kardiologickou klinikou v Brně, jmenovitě s MUDr. Mojmírem Čermákem.

Prvním typem nanomateriálu, který mi poskytla Doc. Ing. L. Martinová, CSc., byl chitosan + PEO (polyethylenoxid) – vyrobený v poměru 9 : 1 s přídavkem + 3% triton, síťování při 130 °C/ 60 minut, ve vodě stabilní.

Druhým typem byla nanovlákná z PVB + TEOS a poslední testovaná nanovlákná byla anorganického původu (křemičitá nanovlákná, která byla vyrobena na KCH ve spolupráci s Ing. J. Studničkovou, Ph.D. z KTC FT TU v Liberci).

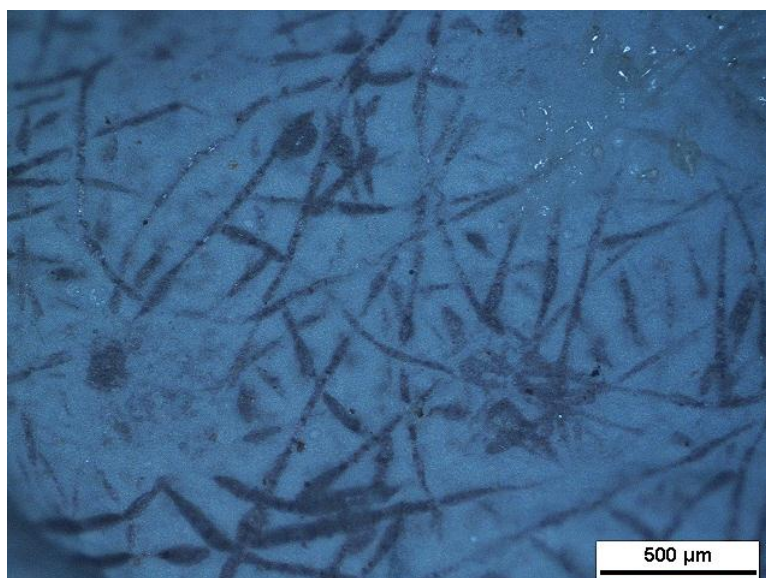
Nanovláknenný substrát byl sililován (2% roztok 3-aminopropyltrimethoxysilan (APTMS) ve vodě). Bioaktivní látky (enzymy, antibiotika) byly imobilizovány přes glutaraldehydické můstky (obr. 44) [281, 282].



Obr. 44 - Schéma imobilizace bioaktivních látek na nanovláknenný substrát (zdroj Šlamborová)

#### 5.4.2. Imobilizace a průkaz enzymu esterázy

Na obr. 45 jsou viditelná tmavě modrá depozita imobilizovaného enzymu (esterázy), jehož přítomnost byla prokázána histochemickou metodou [283]. Výsledky byly publikovány a odpřednášeny na několika konferencích [131, 135] Takto imobilizované enzymy na nanovláknenných substrátech by jistě našly uplatnění jako terapeutický materiál.



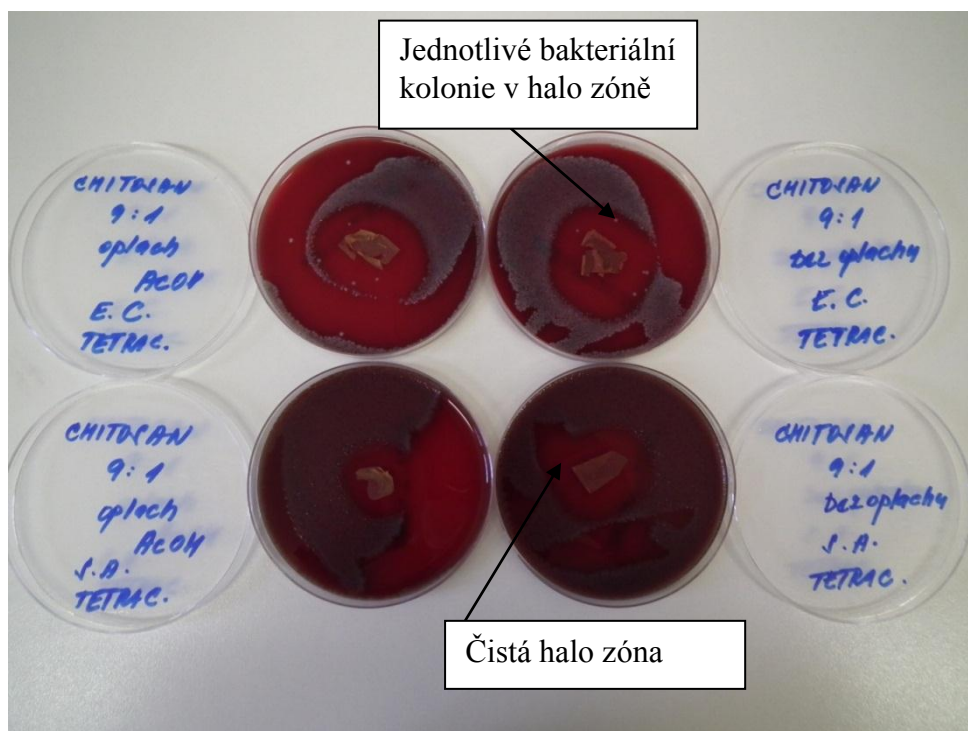
Obr. 45 - Imobilizovaná esteráza na křemičitých nanovláknkách (histochemický průkaz), zvětšeno 5x (zdroj Šlamborová)

### 5.4.3. Imobilizace tetracyklinu

Stejným mechanismem byla imobilizována i antibiotika. Zvolila jsem tetracyklin, který účinkuje na velké spektrum gram negativních bakterií včetně všech bakterií citlivých na penicilin.

Tetracyklin má bakteriostatický účinek. Účinkem tetracyklinu je ovlivněna proteosyntéza bakteriální buňky (není umožněna vazba t-RNA na komplex m-RNA-ribosom) [284].

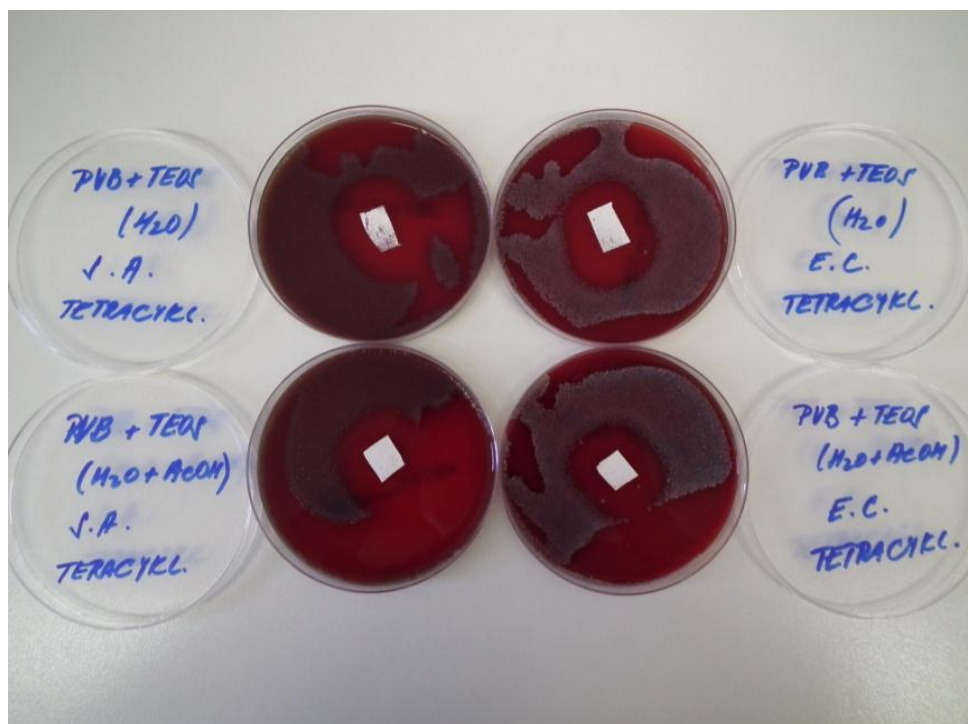
Níže uvedené snímky dokumentují inhibiční účinek, který jsem testovala na vybrané bakteriální kmeny (*St. aureus*, *E. coli*, MRSA, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*).



Obr. 46 - Účinek imobilizovaného tetracyklinu na chitosan + PEO vůči bakteriálním kmenům *E. coli* (*E.C.*) a *St. Aureus* (*S.A.*) (zdroj Šlamborová) [131].

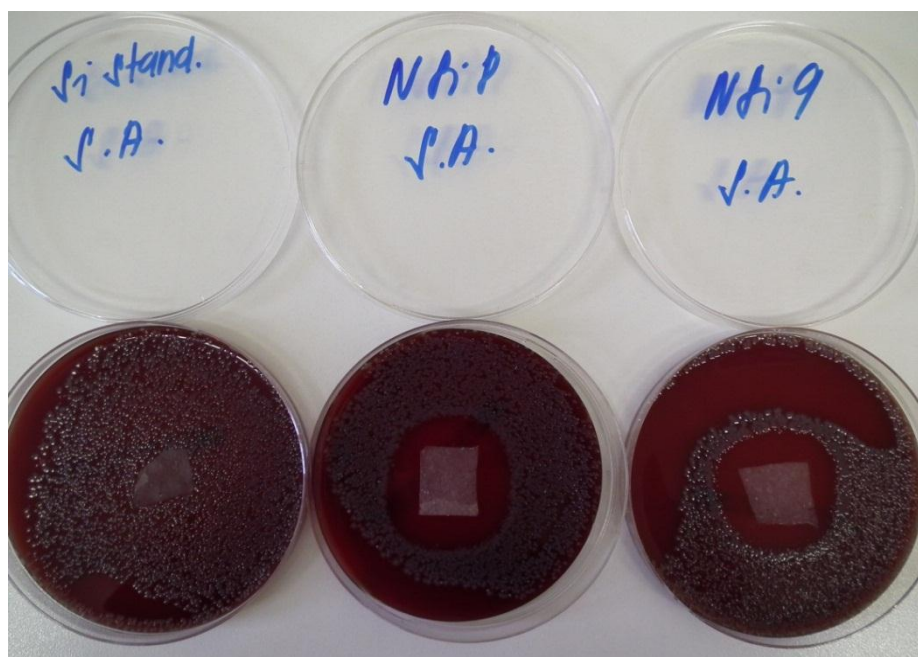
Na snímku (obr. 46) jsou vidět velké halo zóny v oblasti nanovláken. Studie zároveň dokazuje, že po oplachu nanovláken ve zředěné kyselině octové došlo k odstranění nečistot, což se projevilo v oblasti halo zón. U nanovláken bez oplachu kyselinou jsou v oblasti halo zón viditelné jednotlivé bakteriální kolonie. U vzorků podrobených oplachu jsou halo zóny většinou bez bakteriálních kolonií (čisté).





Obr. 47 - Účinek imobilizovaného tetracyklinu na PVB + TEOS vůči bakteriálním kmenům *E. coli* a *St. Aureus* (zdroj Šlamborová) [131].

Výsledky bakteriální inhibice (obr. 47) jsou velice podobné jako u chitosanových nanovláken. Jsou viditelné široké a čisté halo zóny (bez bakteriálních kolonií). Podobných výsledků bylo dosaženo i s testovanými křemičitými nanovláknky (obr. 48).



Obr. 48 - Účinek imobilizovaného tetracyklinu na křemičitá nanovláknka vůči bakteriálnímu kmeni *St. Aureus* (zdroj: Šlamborová) [131].



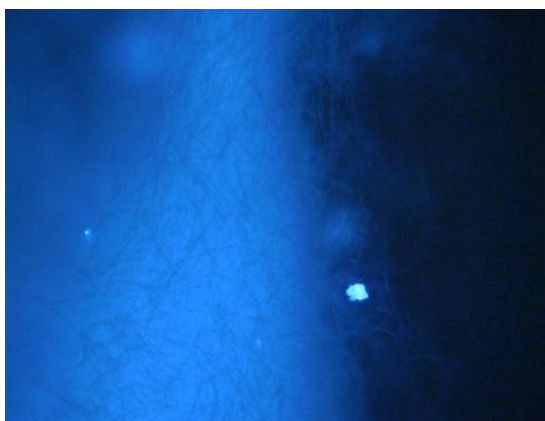
Obr. 49 - Účinek imobilizovaného tetracyklinu na křemičitá nanovlákná vůči bakteriálnímu kmeni MRSA (zdroj: Šlamborová).

Příklad výsledku testů vůči rezistentnímu kmeni MRSA (obr. 49). Na snímcích jsou opět velké a čisté halo zóny, které jsou důkazem bakteriostatického účinku antibiotika vůči MRSA. Inhibiční účinek na další bakteriální patogenní kmeny je velice podobný.

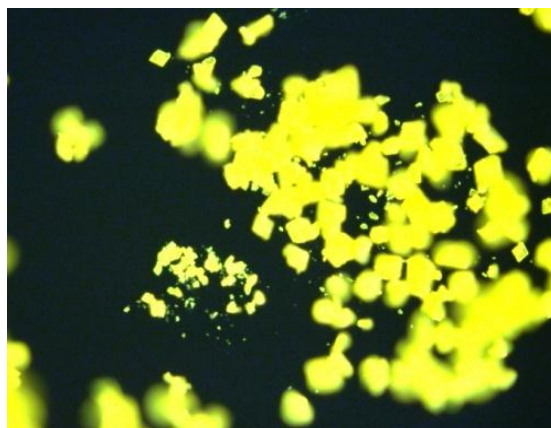
#### 5.4.4. Průkaz imobilizovaného tetracyklinu

Průkaz imobilizovaného antibiotika bylo využito toho, že tetracyklin fluoreskuje při vlnové délce v rozmezí 400 – 480 nm [285].

Na prvním snímku (obr. 50) jsou křemičitá nanovlákná bez imobilizovaného tetracyklinu. Na druhém snímku (obr. 51) jsou viditelná žlutá depozita imobilizovaného tetracyklinu.



Obr. 50 - Křemičitá nanovlákná bez imobilizovaného tetracyklinu, fluorescenční mikroskop Olympus BX51, camera DP 72, zvětšeno 200x. (zdroj: Šlamborová)



*Obr. 51 - Křemičitá nanovláknna s imobilizovaným tetracyklinem – fluorescenční mikroskop Olympus BX51, camera DP 72, zvětšeno 200x. (zdroj: Šlamborová) [130].*

Z této rozsáhlé studie vyplývá, že všechny tři typy testovaných nanovláken vykazují vynikající antibakteriální efekt.

Pro praktické použití v dermatologii je ovšem rozhodující i to, aby použitá nanovláknna byla jemná a kopírovala ránu, na kterou by měla přilnout.

Z tohoto důvodu byla jako nejvhodnější vyhodnocena křemičitá nanovláknna, která vykazovala příjemný omak a bezproblémovou manipulaci. Měkká a pružná struktura nanovláken je nezbytná pro krytí ran. Kromě toho může také přinést pacientům pohodlí, protože přiložení takového krytí ránu nezatěžuje a pacientovi nepůsobí bolesti. Takovouto schopnost nemá žádné jiné krytí, které se v současném zdravotnictví používá. Další dva typy testovaných nanovláken byly tužší a pro obvazový materiál proto méně vhodné. V současné době jsou zpracovávána nanovláknna z chitosanu s kolagenem (příp. želatinou) a budou testovány další možnosti jejich použití v dermatologii.

Po konzultaci s lékaři se jevil jako limitující faktor použitý glutaraldehyd, který tvoří vazbu s antibiotikem. Glutaraldehyd je považován za toxický, i když v tomto případě je pevně vázaný (tvoří kovalentní vazbu s bioaktivní látkou) a neuvolňuje se. Proto jsem ve spolupráci s prof. Ing. Ivanem Stiborem, CSc. hledala vhodnější způsob imobilizace. Vycházeli jsme z práce R. K. Sharma a kol. [286]. Postup popsáný v této práci naprosto eliminuje použití glutaraldehydu [130, 135]. Tímto postupem jsme připravili další sérii vzorků a podrobili mikrobiologickým testům. Nanovláknna s imobilizovaným antibiotikem bez použití glutaraldehydu vykazují naprosto shodné výsledky antibakteriálních testů jako vzorky, kde byl pro vazbu antibiotika glutaraldehyd použit. Lze tedy konstatovat, že tento postup pro imobilizace jakýchkoliv bioaktivních látek je z toxikologického hlediska vhodný. V současné

době je tento obvazový materiál podroben dalším toxikologickým analýzám v akreditované laboratoři, aby mohl být uveden na trh jako zdravotní prostředek (obvazový a krycí materiál).

### ***5.5. Závěrečné shrnutí nejdůležitějších výsledků***

Na nanovláknenné substráty (chitosan + PEO, PVB nanovláknena a křemičitá nanovláknena) byly po sililaci jejich povrchu imobilizovány bioaktivní látky. Podařilo se imobilizovat biomolekuly bez použití glutaraldehydu, jehož rezidua mohou činit problémy na pokožce pacientů. Byl vytvořen obecný postup imobilizace a pomocí tohoto postupu byl imobilizován tetracyklin, jehož přítomnost byla prokázána fluorescenčním mikroskopem při vlnové délce 400 – 480 nm. Stejným způsobem byl imobilizován enzym esteráza, jehož imobilizace na povrchu byla prokázána histochemickou metodou.

Tímto způsobem lze na povrch nanovláken imobilizovat další bioaktivní látky, jako jsou růstové faktory, látky urychlující hojení ran nebo další typy antibiotik či enzymů. S výhodou lze při tvorbě tohoto typu obvazového materiálu využít vynikajících vlastností nanovláken, které mají velký měrný povrch a zároveň koncentrace imobilizované látky je nízká.

V současné době jsou křemičitá nanovláknena s imobilizovaným tetracyklinem testována v klinické studii, do které se zapojili lékaři z Brna a okolí (kardiologická klinika, neonatologické oddělení, transplantační centrum) z Ostravy-Poruby (chirurgické oddělení, dva domovy důchodců + soukromí lékaři) a z Nemocnice Semily (ambulace pro léčbu dekubitů, bércových vředů a dalších typů těžce se hojících ran).

## 6. Závěr

V práci jsem zmapovala některé možnosti účinných prostředků, které brání množení patogenních organismů, zejména však rezistentnímu bakteriálnímu kmeni MRSA.

Metodou sol-gel se nám podařilo vytvořit dva typy hybridních vrstev (AD 7, AD 9) s vynikající antibakteriální aktivitou. Připravené vrstvy jsme nanесли na pevné a textilní substráty. Aktivace vrstev je možná buď běžným zářivkovým světlem, nebo pro rychlejší antibakteriální efekt pomocí UV A záření. Potvrdili jsme, že obsah nanočástic  $\text{TiO}_2$  v solu výrazně nezvyšuje antibakteriální účinek hybridní vrstvy. Toto zjištění je nesmírně cenné zejména z finančního hlediska příprav vrstev, které se díky absenci nanočástic  $\text{TiO}_2$  stávají levnějšími.

Byla testována stabilita vrstvy na nanesených substrátech. U textilních substrátů byly vzorky s vrstvou podrobeny opakovaným pracím cyklům (dle ČSN EN ISO 15797). Pomocí rentgenové fluorescenční analýzy a antibakteriálních testů bylo potvrzeno, že vrstva je po 50 opakovaných pracích cyklech stabilní. Na pevných substrátech byla odolnost vrstev testována opakovanou sterilizací horkým vzduchem (1 hod. při  $130\text{ }^\circ\text{C}$  u polymethylmetakrylátu - PMMA a 2 hod. při  $95\text{ }^\circ\text{C}$  u skla a keramiky), sterilizace byla provedena 10 krát. Potvrzení stability bylo opět uskutečněno pomocí rentgenové fluorescenční analýzy a antibakteriálních testů.

Textilní substráty s nanesenou vrstvou nacházejí široké a významné uplatnění ve zdravotnictví. Rozsáhlá bakteriologická studie prokázala velmi vysokou účinnost obou připravených vrstev (AD 7, AD 9), která byla testována na vybraném spektru patogenních bakteriálních kmenů. Vrstva AD 9 vycházela svým složením z patentově chráněného složení vrstvy AD 7, ve které jsou přítomny ionty Ag a Cu. Přítomnost další složky (iontů Zn) ve vrstvě AD 9 umožnila její rychlejší inhibiční schopnost na vybrané spektrum testovaných patogenních bakteriálních kmenů, které se projevilo zrychlením inhibiční schopnosti (v současnosti byl podán návrh na udělení patentu i pro tuto vrstvu) o cca 40 minut.

Vynikající výsledky byly prokázány zejména u rezistentního bakteriálního kmene MRSA, jehož likvidace je v současnosti celosvětovým problémem. Účinnost vrstev na textilním substrátu byla potvrzena i akreditovanou laboratoří (kap. 8), kde požadavky dle ČSN vrstva AD 9 vysoce převyšuje (viz tabulka 6).

Vrstvy nanesené na dalších typech pevných substrátů (keramika, sklo, PMMA) najdou široké uplatnění tam, kde je vyžadován čistý sterilní prostor a kde by bakteriální kontaminace znamenala nebezpečí pro oslabené pacienty a starší jedince. Vrstvy nanesené na PMMA



mohou výrazně snížit výskyt MRSA a dalších patogenních bakteriálních kmenů na neonatologických a kojeneckých odděleních, dále na transplantačních odděleních, protože právě inkubátory a ochranné „stany života“ jsou z tohoto materiálu vyrobeny. V současné době již probíhají jednání s výrobcí těchto přístrojů. Na keramice (obkladačky a dlaždice, umyvadla, toalety) a skle mají tyto vrstvy také vynikající adhezi a antibakteriální účinky. Vyvíjíme možnost, aby vrstvy mohly být nanесeny na stávající obklady a další sanitu na operačních sálech a odděleních JIP.

Domnívám se proto, že použitím těchto typů vrstev, zejména pak vrstvou AD 9, se velmi významně sníží výskyt bakteriálního kmene MRSA v nemocnicích a dalších sociálních zařízeních.

V další oblasti, na které pracuji, se mi podařilo funkcionalizovat povrch vybraných druhů biodegradabilních organických a anorganických nanovláknenných materiálů (chitosan + PEO, PVB + TEOS, křemičitá nanovláknena). Povrch nanovláken byl sililován a následně imobilizován bioaktivními látkami (enzymy, antibiotika). Přes počáteční problémy s rezidui glutaraldehydu se nám podařilo tuto látku, která umožňovala imobilizaci pomocí glutaraldehydových můstků, vynechat a nahradit jí novou metodou, u které k imobilizaci glutaraldehyd není nutný. Je to obecný postup, díky kterému lze na povrch nanovláken imobilizovat i další biomolekuly (např. peptidy).

Tímto způsobem jsem na povrch nanovláken imobilizovala antibiotikum tetracyklin a materiál podrobila rozsáhlé bakteriologické studii. Výsledky jednoznačně ukazují vynikající kontaktní inhibiční efekt na testované bakteriální kmeny. Máme v rukou materiál, který jistě najde uplatnění při léčbě rozsáhlých ran, dekubitů, bércových vředů a při léčbě tzv. diabetické nohy. S velkou výhodou lze totiž tímto materiálem „tamponovat“ rány, tedy vpravovat je pod jednotlivé svalové snopce a umožnit tak přímý kontakt jakéhokoliv imobilizovaného antibiotika s bakteriální infekcí. Velmi důležitým hlediskem je to, že krytí netraumatizuje ránu, je flexibilní (dobře se aplikuje, přesně kopíruje ránu, nezatěžuje ji) a tím se stává komfortním řešením pro pacienta. Aby obvaz nepřisychal ke spodině rány, musí se přes nanovláknenné krytí dále aplikovat jiný typ obvazu, který zajistí vlhkost v ráně a bude zároveň nasávat a odvádět exsudát z rány. Uvedený požadavek je bez problému splnitelný, protože tyto typy obvazů jsou v současnosti k dispozici. Použitím nanovláknenných obvazů se také minimalizuje počet převazů a tím se snižuje riziko poškození tvořící se spodiny rány (první vrstva buněk zacelující ránu). Protože se používají biodegradabilní nanovláknena, z části se v ráně rozpouštějí a nemusejí se z rány odstraňovat. Při převazu lze totiž pouze ránu vymýt

fyziologickým (roztok s obsahem NaCl) nebo Ringerovým roztokem (jedná se o fyziologický roztok obohacený o ionty draslíku a vápníku) a tím vyplavit zbytky nanovlákněného obvazu. Nezanedbatelné je také hledisko ekonomické, tedy náklady přímo úměrné rychlosti a účinnosti léčby. V porovnání s cenou jiných druhů krytí jsou tyto obvazy ekonomicky únosné a tím dostupné pro širší spektrum pacientů.

Přes dosažené vynikající výsledky s přípravou antibakteriálních vrstev a nanovlákněných obvazů otázkou ale stále zůstává, jakým způsobem budou bakteriální kmeny (zejména bakteriální kmen MRSA) mutovat a přizpůsobovat se tak stále záluďnějším nástrahám jejich likvidace ze strany vědců. Přesto, že žijeme ve 21. století a medicína je na vysoké odborné úrovni, nedokáže si bohužel poradit s mnohými problémy v oblasti léčby ran. Je to také tím, že organismy (bakterie, viry, priony), které se na naší planetě objevily již na začátku prvohor, jsou obdařeny nesmírnou genetickou inteligencí, kterou využívají právě k přizpůsobení se měnícím se podmínkám i k dezinfekčním strategiím, které lidstvo stále zdokonaluje. Proto je žádoucí, aby byly vyvíjeny nové typy antibiotik, léčebných postupů a dalších prostředků, které účinkům těchto organismů budou alespoň po nějakou dobu vzdorovat. Dalším důležitým hlediskem je cenová dostupnost pro pacienty. Stále si ale myslím, že nejlepší je prevence, tedy snaha zabránit průniku bakterií do živého systému, protože samotná léčba je a vždy bude nákladnější a zdlouhavější, než prevence.



## 7. Literatura

- [1] MARSH, B. *Hospitals Fail to Report Spread of New Superbug More Dangerous than MRSA*. [online]. [cit. 2012-02-13]. Dostupné z: <<http://www.telegraph.co.uk/news/uknews/1533274/Hospitals-fail-to-report-spread-of-new-superbug-more-dangerous-than-MRSA.html>>.
- [2] HUANG, S. C. et al. *Virus Res.* 2008, **131**(2), 250-259.
- [3] HARDER, K. M. et al. *J. Infection.* 2012, **64**(5), 520-524.
- [4] *Collaboration for Innovation: The Urgent Need for New Antibiotics*. [online]. [cit. 2012-04-10]. Dostupné z: <<http://www.reactgroup.org/uploads/publications/react-publications/report-collaboration-for-innovation-october-2011.pdf>>.
- [5] DAUM, R.S. *N. Engl. J. Med.* 2007, **357**(4), 380-390.
- [6] HOLTZ, R. D. et al. *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.* 2012. [online]. [cit. 2012-04-10]. doi:10.1016/j.nano.2011.11.012. Dostupné z: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1549963411005946>>.
- [7] HARRIS, A.L. a COLLINS-FANTASIA, H. *J. Nurse Practitioners.* 2010, **6**(6), 435-441.
- [8] PIENCIAK, E. *Microbial Infection of Burn Wounds*. [online]. [cit. 2012-04-13]. Dostupné z: <[http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Microbial\\_Infection\\_of\\_Burn\\_Wounds](http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Microbial_Infection_of_Burn_Wounds)>.
- [9] ZETOLA, N. et al. *Lancet Infect. Dis.* 2005, **5**(5), 275-286.
- [10] *European Antimicrobial Resistance Surveillance System, EARSS Annual Report 2008: on-going surveillance of S. pneumoniae, S. aureus, E. coli, E. faecium, E. faecalis, K. pneumoniae, P. aeruginosa*. [online]. [cit. 2010-05-17]. Dostupné z: <[http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARS\\_Net/Documents/2008\\_EARSS\\_Annual\\_Report.pdf](http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARS_Net/Documents/2008_EARSS_Annual_Report.pdf)>.
- [11] SHANSON, D. C. *J. Hosp. Infect.* 1981, **2**(1), 11-36.
- [12] COOKSON, B. D. a PHILLIPS, I. *J. Antimicrob. Chemother.* 1988, **21**(Suppl. C), 57-65.
- [13] NGUYEN, D. M. et al. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 2007, **28**(4), 406-411.
- [14] ENRIGHT, M. et al. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2002, **99**(11), 7687-7692.
- [15] COOKSON, M. J. et al. *Int. J. Antimicrobial Agents.* 2011, **37**(3), 195-201.
- [16] STÖCKEL, P. *Superléky a jejich věčný boj s mikroby*. [online]. [cit. 2012-04-13]. Dostupné z: <<http://www.novinky.cz/zena/zdravi/243065-superleky-a-jejich-vecny-boj-s-mikroby.html>>.
- [17] KURKOWSKI, C. *Orthop. Nurs.* 2007, **26**(5), 310-314.

- [18] ANDREWS, W, et al. *Obstet. Gynecol.* 2008, **111**(1), 113-118.
- [19] DUNLAP, J. T. *Crit. Care Nurs. Clin. North. Am.* 2007, **19**(1), 61-68.
- [20] NOSKIN, G, et al. *Arch. Intern. Med.* 2005, **165**(15), 1756-1761.
- [21] JERNIGAN, J. A. et al. *Emerg. Infect. Dis.* [online]. 2006, **12**(11). [cit. 2011-05-12]. Dostupné z <[http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/12/11/06-0911\\_article.htm](http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/12/11/06-0911_article.htm)>.
- [22] HANLON, S. J. O. a ENRIGHT, M. C. *Int. J. Antimicrobial Agents.* 2009, **33**(5), 427-431.
- [23] MCCARTNEY, P. *MCN Am. J. Matern. Child Nurs.* 2007, **32**(3), 193.
- [24] BORLAUG, G. et al. *Community associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus: guidelines for clinical management and control of transmission* [online]. [cit. 2009-12-27]. Dostupné z: <[http://dhfs.wisconsin.gov/communicable/pdf\\_files/CAMRSAGuide\\_1105.pdf](http://dhfs.wisconsin.gov/communicable/pdf_files/CAMRSAGuide_1105.pdf)>.
- [25] GORWITZ, R. J. et al. *Strategies for clinical management of MRSA in the community: Summary of an experts' meeting convened by the Centers for Disease Control and Prevention 2006.* [online]. [cit. 2009-12-27]. Dostupné z: <[http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/ar\\_mrsa\\_ca.html](http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/ar_mrsa_ca.html)>.
- [26] GRAFFUNDER, E. M. a VENEZIA, R. A. *J. Antimicrob. Chemother.* 2002, **49**(6), 999-1005.
- [27] COOK, H. A. et al. *Clin. Infect Dis.* 2007, **44**(3), 410-413.
- [28] PERGL, V. *Až čtvrt miliónu pacientů ročně se v nemocnici nakazí infekcí.* [online]. [cit. 2011-01-02]. Dostupné z: <<http://www.novinky.cz/domaci/219265-az-ctvrt-milionu-pacientu-rocne-se-v-nemocnici-nakazi-infekci.html>>.
- [29] POLÍVKOVÁ, S. a BLECHOVÁ, Z. *Zdravotnické noviny.* **2010** (34, příloha Lékařské listy č. 27).
- [30] *Prevention of Hospital-Acquired Infections: A Practical Guide WHO/CDS/CSR/EPH/2002. 12, 2010.* [online]. [cit. 2011-01-02]. Dostupné z: <<http://www.who.int/csr/resources/publications/whocdscsreph200212.pdf>>.
- [31] HUMPHREYS, H. et al. *Clin. Microbiol. Infect.* 2009, **15**(2), 120-124.
- [32] MACKENZIE, F. M. et al. *Clin. Microbiol. Infect.* 2005, **11**(11), 938-954.
- [33] STRUELENS, M. J. *Clin. Microbiol. Infect.* 2009, **15**(2), 112-119.
- [34] DELEO, F. R. et al. *Lancet.* 2010, **375**(9725), 1557-1568.
- [35] DIEKEMA, D.J. *Clin. Infect. Dis.* 2001, **32**(Suppl 2), S114-S132.

- [36] *Centers for Disease Control and Prevention: Community-associated MRSA information for clinicians*, 2005. [online]. [cit. 2010-01-21]. Dostupné z: [http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/ar\[lowem\]mrsa\[lowem\]ca\\_clinicians.html](http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/ar[lowem]mrsa[lowem]ca_clinicians.html).
- [37] CHAMBERS, H. F. *Emerg. Infect. Dis.* 2001, **7**(2), 178-182.
- [38] CORRIERE, M.D. a DECKER, C.F. *Dis. Mon.* 2008, **54**(12), 751-755.
- [39] PERL, T. M. et al. *N. Engl. J. Med.* 2002, **346**(24), 1871-1877.
- [40] STEFANI, S. et al. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2012, **39**(4), 273-282.
- [41] COOPER M. A. a SHLAES, D. *Nature*, 2011, **472**(7341), 32.
- [42] LIVAGE, J. et al., *J. Phys. Condens. Matter.* 2001, **13**(33), R673-R691.
- [43] BETANCOR, L. et al. *Biomacromolecules.* 2005, **6**(2), 1027-1030.
- [44] PIERRE, A. C. *Biocatalysis Biotransformation.* 2004, **22**(3), 145-170.
- [45] BÖTTCHER, H. et al. *J. Mater. Chem.* 2004, **14**(14), 2176-2188.
- [46] GADRE, S. Y. a GOUMA, P. I. *J. Am. Ceram. Soc.* 2006, **89**(10), 2987-3002.
- [47] NGUYEN-NGOC, H. a TRAN-MINH, C. *Mater. Sci. Eng. C.* 2007, **27**(4), 607-611.
- [48] SMITHA, S. et al. *Mater. Chem. Phys.* 2007, **103**(2-3), 318-322.
- [49] CORADIN, T. a LIVAGE, J. *Acc. Chem. Res.* 2007, **40**(9), 819-826.
- [50] MAHLTIG, B. et al. *J. Mater. Chem.* 2005, **15**(41), 4385-4398.
- [51] HUANG, K. S. et al. *J. Appl. Polym. Sci.* 2006, **102**(5), 4136-4143.
- [52] LEIVO, J. et al. *Acta Biomaterialia.* 2006, **2**(6), 659-668.
- [53] BRASACK, I. et al. *Biocompatible composite material useful for making bone or tooth prostheses, for coating metal, ceramic, silicon or polymer implants, or for coating textile fabrics.* German Patent, DE 19811900, 2003-12-11.
- [54] POPOFF, A. a FICHO, D. *Colloids Surfaces B: Biointerfaces.* 2008, **63**(1), 153-158.
- [55] BRASACK, I. et al. *J. Sol-Gel Sci. Technol.* 2000, **19**(1-3), 479-482.
- [56] APPENDINI, P. a HOTCHKISS, J. H. *Packag. Technol. Sci.* 1997, **10**(5), 271-279.
- [57] KURT, P. et al. *Langmuir.* 2007, **23**(9), 4719-4723.
- [58] BÖTTCHER, H. et al. *J. Sol-Gel Sci. Technol.* 1997, **8**(1-3), 651-654.

- [59] MAHLTIG, B. et al. *H. J. Sol-Gel Sci. Technol.* 2004, **32**(1-3), 219-222.
- [60] LÓPEZ, T. et al. *J. Non-Cryst. Solids.* 2007, **353**(8-10), 987-989.
- [61] TILLER, J. *Nachr. Chem.* 2007, **55**(5), 499-502.
- [62] JOHNS, K. *Surf. Coat. Int. B: Coat. Transactions.* 2003, **86**(2), 101-110.
- [63] MUCHA, H. et al. *Melliand Int.* 2002, **8**(5), 48-151.
- [64] HÖFER, D. *Melliand Textilber.* 2006, **87**, 751-753.
- [65] ELSNER, P. *Curr. Probl. Dermatol.* 2006, **33**(1), 35-41.
- [66] SHIOTANI, J. a TAKEHANA, T. *Jap. J. Antibiot.* 2004, **57**(2), 196-203.
- [67] DAOUD, W. A. et al. *Surf. Sci.* 2005, **599**(1-3), 69-75.
- [68] KNOBELSDORF, C. a MIECK, K.-P. *Textilveredlung.* 2000, **35**(7-8), 10-15.
- [69] KNITTEL, D. et al. *Technical Textiles*, 2006, **4**, 188-191.
- [70] HAUFE, H. et al. *Surf. Coat. Int. B: Coat. Transactions.* 2005, **88**(1), 55-60.
- [71] ANDERSSON, N. *Microporous Mesoporous Materials.* 2004, **72**(1-3), 175-183.
- [72] KURODA, K. a DEGRADO, W. F. *J. Am. Chem. Soc.* 2005, **127**(12), 4128-4129.
- [73] ISHITSUKA, Y. *J. Am. Chem. Soc.* 2006, **128**(40), 13123-13129.
- [74] BRIZZOLARA, R. A. a STAMPER, D. M. *Surf. Interface Anal.* 2007, **39**(7), 559-566.
- [75] STEELE, J. W. et al. *Antimicrobial hydrophilic coating.* US Patent, US 5305827, 1994-04-26.
- [76] ZHOU, S. J. et al. *Alumina-based hydrophilic antimicrobial coating.* US Patent, US 6102994, 2000-08-15.
- [77] CHEN, X. a MAO, S. S. *Chem. Rev.* 2007, **107**(7), 2891-2959.
- [78] PANG, X. a ZHITOMIRSKY, I. *Surf. Coat. Technol.* 2008, **202**(16), 3815-3821.
- [79] XING, Y. et al. *J. Sol-Gel Sci. Technol.* 2007, **43**(2), 187-192.
- [80] BARRECA, D. et al. *J. Phys. Chem. C.* 2011, **115**(21), 10510-10517.
- [81] BLAKER, J. J. et al. *Biomaterials.* 2004, **25**(7-8), 1319-1329.
- [82] RASTOGI, S. K. et al. *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.* 2011, **7**(3), 305-314.

- [83] LEE, H. J. et al. *J. Mater. Sci.* 2003, **38**(10), 2199-2204.
- [84] *Anatase Mineral Data*. [online]. [cit. 2012-04-25]. Dostupné z: <http://webmineral.com/data/Anatase.shtml>.
- [85] *Rutile Mineral Data*. [online]. [cit. 2012-04-25]. Dostupné z: <http://webmineral.com/data/Rutile.shtml>.
- [86] *Brookite Mineral Data*. [online]. [cit. 2012-04-25]. Dostupné z: <http://webmineral.com/data/Brookite.shtml>.
- [87] AO, Y. et al. *Applied Surface Science*. 2008, **255**(5), 3137-3140..
- [88] FUJISHIMA, A. et al. *TiO<sub>2</sub> fotokatalýza: základy a aplikace*. 1.vyd. Praha, Silikátový svaz, 2002. ISBN 80-903113-3-4.
- [89] CHOI, J.Y. et al. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 2007, **80**(2), 353–359.
- [90] DIEBOLD, U. *Surf. Sci. Rep.* 2003, **48**(5-8), 53-229.
- [91] SATO, T. a TAYA, M. *Biochem. Eng. J.* 2006, **30**(2), 199-204.
- [92] FUJISHIMA, A. a HONDA, K. *Nature*. 1972, **238**(5358), 37-38.
- [93] HUANG, Z. et al. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 2000, **130**(2-3), 163-170.
- [94] RINCON, A. G. a PULGARIN, C. *Appl. Catal. B: Environ.* 2003, **44**(3), 263-284.
- [95] HORÁKOVÁ, M. *Depozice speciálních funkčních vrstev a jejich testování*. Liberec, 2009. Disertační práce. Technická univerzita v Liberci, Fakulta strojní, Katedra materiálů.
- [96] BLAKE, D. M. et al. *Sep. Purif. Methods Rev.* 1999, **28**(1), 1-50.
- [97] MANEERAT, C. a HAYATA, Y. *Int. J. Food Microbiol.* 2006, **107**(2), 99-103.
- [98] NONAMI, T. et al. *Catalysis Today*. 2004, **96**(3), 113-118.
- [99] SUNADA, K. et al. *Environ. Sci. Technol.* 1998, **32**(5), 726-728.
- [100] HORSKÁ, I. et al. Layers of inorganic-organic materials prepared by sol-gel method. In: *73<sup>rd</sup> Prague Meeting on Macromolecules, New Frontiers in Macromolecular Science, Prague, July 5-9, 2009*. Prague: Institute of Macromolecular Chemistry AS CR, 2009, s. 86. ISBN 978-80-85009-59-0.
- [101] LIU, J. X. et al. *Thin Solid Films*. 2003, **429**(1-2), 225-230.
- [102] CHEN, Y. a DIONYSIOU, D. D. *Appl. Catal. B: Environ.* 2006, **62**(3-4), 255-264.

- [103] MICHALČÍK, Z. et al. Antibacterial properties of titanium oxides films with oriented growth. In: PAZOUREK, A. a PROKOPČÁKOVÁ, P., eds. *Book of Extended Abstracts, PANMS (Potential and Application of Nanotreatment of Medical Surfaces), Liberec, 5.-7. September 2011*. Liberec: Technical University of Liberec, 2011, s. 16- 20. ISBN 978-80-7372-756-7.
- [104] MICHALČÍK, Z. et al. New TiO<sub>x</sub> films with oriented growth and their photocatalytic and antibacterial effects. In: *54th Annual Technical Conference Proceedings, Chicago, 16.-21. April 2011*. Chicago: Society Vacuum Coaters, 2011, s. 73-80. ISSN 0737-5921.
- [105] DUMITRIU, D. et al. *Appl. Catal. B: Environ.* 2000, **25**(2-3), 83-92.
- [106] PAN, J. et al. *J. Biomed. Mater. Res.* 1997, **35**(3), 309-318.
- [107] HÁJKOVÁ, P. et al. *Tissue Eng. A*. 2007, **13**(4), 908.
- [108] HÁJKOVÁ, P. et al. *Plasma Processes Polym.* 2007, **4**(4), 397-401.
- [109] BESSERGENEV, V. G. et al. *Thin Solid Films*. 2006, **503**(1-2), 29-39.
- [110] GORDON, R. J. *Non-Cryst. Solids*. 1997, **218**, 81-91.
- [111] YATES, H. M. et al. *ECS Trans.* 2009, **25**(8), 781-788.
- [112] FOSTER, H.A. et al.: *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 2010, **216**(2-3), 283-289.
- [113] GANDHIRAMAN, R. P. et al. *Vacuum*. 2012, **86**(5), 547-555.
- [114] LIANG, X. B. et al. *Materials Letters*, 2006, **60**(6), 730-733.
- [115] KUMAR, S. et al. *Vacuum*. 2001, **63**(3), 433-439.
- [116] SHA, B.Y. et al.: *Composites Part B: Eng.* 2011, **42**(8), 2136-2144.
- [117] HEIDENAU, F. et al. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2005, **16**(10), 883-888.
- [118] LIN, C. M. a YEN, S. K. *Mater. Sci. Eng. C*. 2006, **26**(1), 54-64.
- [119] HATA, A. et al. *JSAE Rev.* 2000, **21**(1), 97-102.
- [120] MATSUNAGA, T. et al. *FEMS Microbiol. Lett.* 1985, **29**(1-2), 211-214.
- [121] GRZECHULSKA, J. a MORAWSKI, A. W. *Appl. Catal. B: Environ.* 2003, **46**(2), 415-419.
- [122] CHUNG, CH. J. et al. *Appl. Catal. B: Environ.* 2008, **85**(1-2), 103-108.
- [123] QUE, W. et al. *Thin Solid Films*. 2000, **359**(2), 177-183.



- [124] *Bakterie* [online]. [cit. 2012-04-25]. Dostupné z: <[http://www.google.cz/imgres?q=stavba+bakterie&start=49&num=10&hl=cs&gbv=2&biw=1366&bih=600&bm=isch&tbnid=-Em2H-LC-RZUGM:&imgrefurl=http://maturitabiologia.sengym-moodle.sk/zadanie\\_10/bakte](http://www.google.cz/imgres?q=stavba+bakterie&start=49&num=10&hl=cs&gbv=2&biw=1366&bih=600&bm=isch&tbnid=-Em2H-LC-RZUGM:&imgrefurl=http://maturitabiologia.sengym-moodle.sk/zadanie_10/bakte)>.
- [125] VOHRA, A. et al. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 2005, **32**(8), 364-370.
- [126] LI, Y. et al. *J. Hosp. Infect.* 2006, **62**(1), 58-63.
- [127] MANESS, P. C. et al. *Appl. Environ. Microbiol.* 1999, **65**(9), 4094-4098.
- [128] WEI, C. et al. *Environ. Sci. Technol.* 1994, **28**(5), 934-938.
- [129] ŠLAMBOŘOVÁ, I. et al. Possibilities of immobilisation of selected bioactive compounds on nanofibers. In: PAZOUŘEK, A. a PROKOPČÁKOVÁ, P., eds. *Book of Extended Abstracts, PANMS (Potential and Application of Nanotreatment of Medical Surfaces), Liberec, 5.-7. September 2011*. Liberec: Technical University of Liberec, 2011, s. 24-27. ISBN 978-80-7372-756-7.
- [130] ŠLAMBOŘOVÁ, I. et al. *Vlákna Textil.* 2012, **19**(2), 3-9.
- [131] EXNAR, P. et al. Silanizace skleněných povrchů a její využití pro imobilizaci organických agens. In: LIŠKA, M. a KLEMENT, R., eds. *Zborník príspevkov, Slovenská a česká konferencia o skle, Trenčianské Teplice, 30.11.-2.12.2011*. Teplice: Vyd. České sklářské společnosti, 2011, s. 72-77. ISBN 978-80-260-1068-5.
- [132] KOŇARIKOVÁ, J. et al. Silanization of surfaces and its application to the esterase enzyme immobilization on the surface of nanofibers. In: *Proceedings of IX<sup>th</sup> Int. Conference „Preparation of Ceramic Materials“, Herľany, Slovakia, 14.-16. June 2011*. Košice: Technical University of Košice, 2011, s. 53-56. ISBN 978-80-553-0678-0.
- [133] KANGWANSUPAMONKON, W. et al. *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.* 2009, **5**(2), 240-249.
- [134] ŠLAMBOŘOVÁ, I. et al. *J. Mat. Sci. Eng. C.* 2012, [submitted 2012-04-10].
- [135] SANCHEZ, C. a RIBOT, F. *New J. Chem.* 1994, **18**(10), 1007-1047.
- [136] SAKKA, S. eds. *Handbook of Sol-Gel Science and Technology*. Boston: Kluwer Academic Publisher, 2005. ISBN 978-1-4020-7969-6.
- [137] WRIGHT, J. D. a SOMMERDIJK, N. A. J. *Sol-Gel Materials: Chemistry and Applications*. Amsterdam: Gordon Breach, 2001. ISBN 90-5699-326-7.
- [138] PAGLIARO, M. *Silica-Based Materials for Advanced Chemical Applications*. Cambridge: RSC Publ. 2009. ISBN 978-1-84755-898-5.
- [139] MENA, B. et al. *Bioencapsulation in Silica-Based Nanoporous Sol-Gel Glasses*. New York: NOVA Science Publ., 2010. ISBN 978-1-61761-752-2.



- [140] HITZKY, E.R. et al. *Bio-inorganic Hybrid Nanomaterials: Strategies, Syntheses, Characterization and Application*. Weinheim: Wiley-VCH, 2008. ISBN 978- 3527317189.
- [141] ZAJÍCOVÁ, V. et al. Microencapsulation of Organic Dyes into the Hybrid Layers Prepared by Sol-Gel Method. In: *17<sup>th</sup> International Conference STRUTEX (Structure and Structural Mechanics of Textile Fabrics), Liberec, November 2010*. Liberec, Technical University of Liberec, 2010, s. 97-98. ISBN 978-80-7372-664-5.
- [142] SCHMIDT, H. *J. Sol-Gel Sci. Technol.* 1994, **1**(3), 217-231.
- [143] HENCH, L. L. a OREFICE, R. L. Sol-gel technology. In: *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 4th Ed. Vol. 22*. New York: J. Wiley, 1997, s. 497-528. ISBN 9780471526957.
- [144] *International Sol-Gel Society* [online]. [cit. 2011-02-02]. Dostupné z: <<https://www.isgs.org/>>.
- [145] DIMITRIEV, Y. et al. *J. Univ. Chem. Technol. Metallurgy (Sofia)*. 2008, **43**(2), 181-192.
- [146] JESENÁK, K. *Sól - gélové metody*. [CD-ROM]. Bratislava: Univerzita Komenského, 2005. ISBN 80-223-2071-4.
- [147] HAN, Y. H. et al. *J. Non-Crys. Solids*. 2007, **353**(3), 313-320.
- [148] *ORMOCER<sup>®</sup>s* [online]. [cit. 2011-02-02]. Dostupné z: <<http://www.ormocer.de/EN/>>.
- [149] SEDDON, A. B. et al. *J. Sol-Gel Sci. Technol.* 1994, **2**(1-3), 181-183.
- [150] HENCH, L. L. a WEST, J. K. *Chem. Rev.* 1990, **90**(1), 33-72.
- [151] GVISHI, R. *J. Sol-Gel Sci. Technol.* 2009, **50**(2), 241-253.
- [152] EXNAR, P. *Metoda sol-gel*. Liberec: Technická univerzita v Liberci, 2006. ISBN 80-7372-063-9.
- [153] CALVERT, P. D. a MARK, J. E. *Mater. Sci. Eng. C*. 1998, **6**(2-3), 73.
- [154] HAAS, K. H. et al. *Surf. Coat. Technol.* 1999, **111**(1), 72-79.
- [155] KICKELBICK, G. *Hybrid materials: synthesis, characterization and applications*. Weinheim: Wiley-VCH, 2006. ISBN 978-3-527-31299-3.
- [156] HOFFMANN, F. a FRÖBA, M. The Supramolecular Chemistry of Organic-Inorganic Hybrid Materials. In: *The Supramolecular Chemistry of Organic-Inorganic Hybrid Materials*. K. RURACK a R. MARTÍNEZ-MÁNEZ, eds. London: J. Wiley, 2010, s. 39-112. ISBN 978-0-470-37621-8.

- [157] MASSARD, C. et al. *Progress Organic Coatings*. 2012 [online]. [cit. 2012-04-25]. Dostupné z: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300944012000860>>.
- [158] ZAJÍCOVÁ, V. *Modifikace vlastností povrchů různých materiálů pomocí organicko-anorganických vrstev*. Liberec, 2009. Disertační práce. Technická univerzita v Liberci, Fakulta strojní, Katedra materiálů.
- [159] FRANC, J. et al. *Mater. Sci. Eng. B*. 2006, **129**(1-3), 180-185.
- [160] WANG, H. et al. *Polym. Degrad. Stab.* 2006, **91**(7), 1455-1461.
- [161] QUE, W. et al. *Thin Solid Films*. 2000, **359**(2), 177-183.
- [162] PHANASGAONKAR, A. a RAJA, V. S. *Surf. Coat. Technol.* 2009, **203**(16), 2260-2271.
- [163] NECULA, B. S. et al. *Acta Biomaterialia*. 2009, **5**(9), 3573-3580.
- [164] KUMAR, R. a MUNSTEDT, H. *Biomaterials*. 2005, **26**(14), 2081-2088.
- [165] KIM, J.S. et al. *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.* 2007, **3**(1), 95-101.
- [166] LOK, C.N. et al. *J. Proteome Res.* 2006, **5**(4), 916-924.
- [167] YOSHINARI, M. et al. *Biomaterials*. 2001, **22**(14), 2043-2048.
- [168] JAISWAL, S. et al. *Colloids Surfaces B: Biointerfaces*. 2012, **94**, 170-176.
- [169] ZAJÍCOVÁ, V. et al. *Ceramics-Silikáty*. 2011, **55**(3), 221-227.
- [170] ŠLAMBOŘOVÁ, I. et al. *Antibakteriální vrstva působící zejména proti bakteriálnímu kmeni MRSA a dalším patogenním bakteriím*. Patentová přihláška ČR PV2011-202, 2011-04-07.
- [171] SHEIKH, F. A. et al. *Applied Surface Science*. 2011, **257**(7), 3020-3026.
- [172] MACHIDA, M. et al. *J. Am. Ceram. Soc.* 2005, **88**(1), 95-100.
- [173] *Precheza Přerov, dokumentace ke vzorkům*. 2009, nepublikováno.
- [174] ČSN EN ISO 15797. *Textilie - Postupy průmyslového praní a doupravy pro zkoušení pracovních oděvů*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2004. Třídící znak 80 0879.
- [175] *Ústav lékařské mikrobiologie*. [online]. [cit. 2011-02-02]. Dostupné z: <<http://old.lf3.cuni.cz/ustavy/mikrobiologie>>.
- [176] TALARO, K. P. *Foundation in Microbiology*. Boston: McGraw-Hill, 2008. ISBN 978-0-07-299489-6.

- [177] ŠLAMBOŘOVÁ, I. et al. *Vlákna Textil*. 2011, **18**(4), 25-31.
- [178] HÁJKOVÁ, P. et al. Photocatalytic decomposition of organic matter and microbe. In: *Vacuum and plasma surface engineering, Hejnice, 24.-26. October 2007*. Liberec: Technical University of Liberec, 2017, s. 25-26. ISBN 978-80-7372-266-1.
- [179] ŠLAMBOŘOVÁ, I. et al. Výzkumná zpráva, 2012, nepublikováno.
- [180] ČSN EN 13785-1+A1. *Operační roušky, pláště a operační oděvy do čistých prostor, používané jako zdravotnické prostředky pro pacienty, nemocniční personál a zařízení – Část 1: Všeobecné požadavky na výrobce, zpracovatele a výrobky*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2010. Třídící znak 85 5810.
- [181] ČSN EN 13795-3+A1. *Operační roušky, pláště a operační oděvy do čistých prostor, používané jako zdravotnické prostředky pro pacienty, nemocniční personál a zařízení – Část 3: Požadavky na provedení a úrovně provedení*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2010. Třídící znak 85 5810.
- [182] *Nové požadavky na textilní zdravotnické prostředky pro operační sály*. [online]. [cit. 2010-12-23]. Dostupné z: <[http://www.tzu.cz/get\\_dokument.php?ID=696](http://www.tzu.cz/get_dokument.php?ID=696)>.
- [183] ČSN EN 13795-2+A1. *Operační roušky, pláště a operační oděvy do čistých prostor, používané jako zdravotnické prostředky pro pacienty, nemocniční personál a zařízení – Část 2: Zkušební metody*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2010. Třídící znak 85 5810.
- [184] ŠLAMBOŘOVÁ, I. et al. Antibacterial Properties of Hybrid and Nanocomposite Hybrid Coatings Based on 3-trimethoxysilylpropyl methacrylate. In: ALI, N. a MITURA, S., eds. *Abstracts book, 6<sup>th</sup> NANOSMAT Conference, Krakow, Poland, 17.-20. October 2011*. Krakow: NANOSMAT, 2011, s. 185.
- [185] ČSN EN ISO 22612. *Ochranný oděv proti infekčním agens: Zkušební metoda odolnosti proti penetraci mikrobů za sucha*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2005. Třídící znak 85 5811.
- [186] KUBÍKOVÁ, J. *Hodnocení ochranných oděvů pro pracovníky ve zdravotnictví*. Liberec, 2011. Diplomová práce. Technická univerzita v Liberci, Fakulta textilní, Katedra oděvnictví.
- [187] SMOLIK, T. *Antimikrobiell wirksames Wäschestück und Verwendung eines Textils zu dessen Herstellung*. German Patent, DE10057875A1, 2002-05-29.
- [188] WERFEL, T. *Krankenpfl. J.* 2001, **39**(1-2), 5-7.
- [189] JOHANSSON, C. *Brit. J. Dermatol.* 2003, **148**(3), 479-488.
- [190] OVINGTON, L. G. *Home Healthcare Nurse*. 2001, **19**(10), 622-631.
- [191] WOLLINA, U. et al. *Curr. Probl. Dermatol.* 2003, **31**, 82-97.

- [192] YIN, S. et al. *J. Eur. Ceram. Soc.* 2006, **26**(13), 2735-2742.
- [193] HAUG, S. et al. *Curr. Probl. Dermatol.* 2006, **33**, 144-151.
- [194] ČECHUROVÁ, D. et al. *Diagnostika a léčba syndromu diabetické nohy pro praxi*. [online]. [cit. 2011-10-23]. Dostupné z: <<http://metabol.lfp.cuni.cz/old/noha/text.asp?t=ischemie>>.
- [195] *Péče o imobilního pacienta s dekubitem, obrázek*. [online]. [cit. 2011-10-23]. Dostupné z: <<http://www.google.cz/imgres?q=dekubity&hl=cs&biw=1024&bih=569&gbv=2&tbnid=i8Em9mlF7iUrVM:&imgrefurl=http://www.zdn.cz/clanek/sestra/pece-o-imobilniho-pacienta-s-dekubitem>>.
- [196] Bolest při převazu rány? To ne! *Diagnóza v ošetrovatelství*. 2011, **7**(6), 7-8.
- [197] *Kůže, obrázek*. [online]. [cit. 2011-10-23]. Dostupné z: <<http://www.google.cz/imgres?q=kůže&hl=cs&biw=1366&bih=643&gbv=2&tbnid=fMBXhj-fxJjRQM:&imgrefurl=http://sestra.org/K%25C5%25AF%25C5%25BEE&docid=VsNIFzD8fcdS7M&im>>.
- [198] Méně traumat. Méně bolesti. *Tempus medicorum*. 2001, **20**(7-8), 2.
- [199] *Hydrosorb® – hydrogelové krytí: Hydrogelové krytí s technologií AquaClear*. [online]. [cit. 2011-10-23]. Dostupné z: <<http://www.lecbarany.cz/produkty/vlhke-kryti/hydrosorb>>.
- [200] *Results for search: mepilex*. [online]. [cit. 2011-10-23]. Dostupné z: <<http://shopwoundcare.com/search.aspx?searchTerms=mepilex>>.
- [201] *Krytí na rány TenderWet 24 průměr 4cm*. [online]. [cit. 2011-10-23]. Dostupné z: <<http://www.zdravotnicke-potreby.net/detail.php?id=21432>>.
- [202] *Aura Medical*. [online]. [cit. 2011-10-23]. Dostupné z: <<http://www.rany.cz>>.
- [203] MARTINOVÁ, L. *Síťování hydrofilních polymerů v nanovláknenných systémech*. Liberec, 2007. Habilitační práce. Technická univerzita v Liberci, Fakulta textilní.
- [204] KIM, S. S. et al. *Polymer*. 1995, **36**(23), 4497-4501.
- [205] MA, Z. et al. *Colloids Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*. 2011, **387**(1-3), 57-64.
- [206] PLŠKO, A. a EXNAR, P. *Silikáty*. 1989, **33**(1), 69-81.
- [207] *Sol-Gel Chemistry*. [online]. [cit. 2007-03-09]. Dostupné z: <<http://www.psrc.usm.edu/mauritz/solgel.html>>.
- [208] BRINKER, C. J. a SCHERER, G. W. *Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*. Boston: Academic Press, 1990. ISBN 0-12-134970-5.

- [209] *Chemat Technology, Sol Gel Technology* [online]. [cit. 2007-04-13].  
Dostupné z: <<http://www.chemat.com/html/solgel.html>>.
- [210] MATOUŠEK, J. et al. *Ústav skla a keramiky – Koroze skel v myčkách*. [online].  
[cit. 2007-04-13]. Dostupné z: <<http://www.vscht.cz/sil/chemtech/vyzkum/sol-gel/sol-gel.htm>>.
- [211] SAKKA, S. Formation of glass and amorphous oxide fibers from solution. In: *Better Ceramics Through Chemistry*. BRINKER, C. J., CLARK, D. E., ULLRICH, D. R., eds. New York: Elsevier, 1984. s. 91-99.
- [212] RAHAMAN, M. N. *Ceramic Processing and Sintering*. 2nd edition. New York: M. Dekker, 2003. ISBN 0-8247-0988-8.
- [213] SAKKA, S. a KAMIYA, K. *J. Non-Cryst. Solids*. 1982, **48**(1), 31-46.
- [214] STÖBER, W. et al. *J. Colloid Interface Sci.* 1968, **26**(1), 62-69.
- [215] ARTAKI, I. et al. *J. Non-Cryst. Solids*. 1986, **81**(3), 381-395.
- [216] BRINKER, C. J. *J. Non-Cryst. Solids*. 1988, **100**(1-3), 31-50.
- [217] ŠEFČIK, J. a MCCORMICK, A. V. *Catalysis Today*. 1997, **35**(3), 205-223.
- [218] AELION, R. et al. *J. Am. Chem. Soc.* 1950, **72**(12), 5705-5712.
- [219] POUXVIEL, J. C. et al. *J. Non-Cryst. Solids*. 1987, **89**(3), 345-360.
- [220] ASSINK, R. A. a KAY, B. D. *J. Non-Cryst. Solids*. 1988, **99**(2-3), 359-370.
- [221] WANG, J. et al. *Physics Procedia*. 2011, **18**, 143-147.
- [222] LINSEBIGLER, A. et al. *Chem. Rev.* 1995, **95**(3), 735-758.
- [223] *Sol Gel Process*. [online]. [cit. 2007-04-10]. Dostupné z:  
<<http://optoweb.fis.uniroma2.it/opto/solgel/index.html>>.
- [224] ONDARCUHU, T. a JOACHIM, C.: *Europhys. Lett.* 1998, **42**(2), 215-220.
- [225] FENG, L. et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2002, **41**(7), 1221-1223.
- [226] MARTIN, C. R. *Chem. Mater.* 1996, **8**(8), 1739-1746.
- [227] ZHANG, G. et al. *Mater. Sci. Eng. B.* 2005, **116**(3), 353-358.
- [228] KENAWYA, E. et al. *J. Contr. Release*. 2002, **81**, 57-64.
- [229] YANG, Q. B. et al. *Synthetic Met.* 2003, **137**, 973-974.
- [230] SON, W. K. et al. *Macromol. Rapid Comm.* 2004, **25**(18), 1632-1637.

- [231] JIN, W. J. et al. *Macromol. Rapid Comm.* 2005, **26**(24), 1903-1907.
- [232] HONG, K. H. *Polymer Engin. Sci.* 2007, **47**(1), 43-49.
- [233] HONG, K. H. et al. *J. Polymer Sci. Part B: Polymer Phys.* 2006, **44**(17), 2468-2474.
- [234] KS K 0693. Test method for the antibacterial activity of textiles. 2001.
- [235] KIM, J.Y. et al. *J. Korean Soc. Environ. Eng.* 2005, **27**, 771-776.
- [236] FENG, Q. L. et al. *J. Biomed. Mater. Res.* 2000, **52**, 662-668.
- [237] STUDNIČKOVÁ, J. *Anorganická nanovláknna na bázi oxidu křemičitého*. Liberec, 2008. Disertační práce. Technická univerzita v Liberci, Fakulta textilní, Katedra textilní chemie.
- [238] KURITA, K. *Prog. Polym. Sci.* 2001, **26**(9), 1921-1971.
- [239] RINAUDO, M. *Prog. Polym. Sci.* 2006, **31**(7), 603-632.
- [240] PILLAI, C. K. S. et al. *Prog. Polym. Sci.* 2009, **34**(7), 641-678.
- [241] ROBERTS, G. A. F. *Chitin chemistry*. London: Macmillan, 1992. ISBN 9780333524176.
- [242] NAGAHAMA, H. et al. *Carbohydr. Polym.* 2008, **73**(3), 456-463.
- [243] JAYAKUMAR, R. et al. *Carbohydr. Polym.* 2005, **62**(2), 142-158.
- [244] JAYAKUMAR, R. et al. *Int. J. Biol. Macromol.* 2009, **45**(3), 260-264.
- [245] JAYAKUMAR, R. et al. *Int. J. Biol. Macromol.* 2007, **40**(3), 175-181.
- [246] SCHIFFMAN, J. D. a SCHAUER, C. L. *Biomacromolecules*. 2007, **8**(2), 594-601.
- [247] SHALUMON, K. T. et al. *Carbohydr. Polym.* 2009, **77**(4), 863-869.
- [248] JAYAKUMAR, R. et al. *J. Bioact. Compat. Polym.* 2006, **21**(4), 327-340.
- [249] PRABAHARAN, M. a MANO, J. F. *Drug Deliv.* 2005, **12**(1), 41-57.
- [250] ANITHA, A. et al. *Carbohydr. Polym.* 2009, **78**(4), 672-677.
- [251] MADHUMATHI, K. et al. *Int. J. Biol. Macromol.* 2009, **44**(1), 1-5.
- [252] MAEDA, Y. et al. *Int. J. Biol. Macromol.* 2008, **42**(5), 463-467.
- [253] MURAMATSU, K. et al. *Polym. Degrad. Stab.* 2003, **81**(2), 327-332.



- [254] PORTERO, A. et al. *Carbohydr. Polym.* 2007, **68**(4), 617-625.
- [255] WANG, J. W. a HON, M. H. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2003, **14**(12), 1079-1088.
- [256] ZHANG, C. et al. *Eur. Polym. J.* 2005, **41**(3), 423-432.
- [257] FANG, J. et al. *Chin. Sci. Bull.* 2008, **53**(19), 2265-2286.
- [258] MIYA, M. et al. *J. Polym. Sci. Polym. Phys.* 1984, **22**(6), 1149-1151.
- [259] ZHENG, H. et al. *J. Appl. Polym. Sci.* 2001, **80**(13), 2558-2565.
- [260] YILMAZ, E. et al. *J. Polym. Anal. Charact.* 2003, **8**(5), 327-338.
- [261] IGNATOVA, M. et al. *Eur. Polym. J.* 2007, **43**(4), 1112-1122.
- [262] PEESAN, M. et al. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 2006, **17**(5), 547-565.
- [263] KHOR, E. a LIM, L. Y. *Biomaterials.* 2003, **24**(13), 2339-2349.
- [264] ALLEN, M. J. et al. *Spine.* 2004, **29**(5), 515-523.
- [265] ZHANG, Y. et al. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2005, **16**(10), 933-946.
- [266] CHEN, D. H. et al. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 1994, **61**(4), 351-357.
- [267] GRIFFITH, L. G. *Acta Mater.* 2000, **48**(1), 263-277.
- [268] SIMS, C. D. et al. *Plast. Reconstr. Surg.* 1996, **98**(5), 843-850.
- [269] SUBRAMANIAN, A. et al. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 2005, **16**(7), 861-873.
- [270] HUH, M. W. et al. *J. Appl. Polym. Sci.* 2001, **81**(11), 2769-2778.
- [271] YANG, M. R. et al. *Mater. Sci. Eng.* 2002, **C20**, 167-173.
- [272] JUNG, K. H. et al. *J. Appl. Polym. Sci.* 2007, **105**(5), 2816-23.
- [273] MINCHEVA, R. et al. *Eur. Polym. J.* 2007, **43**(7), 2809-2818.
- [274] NEAMNARK, A. et al. *Carbohydr. Polym.* 2006, **66**(3), 298-305.
- [275] LEE, K. Y. et al. *Biomaterials.* 1995, **16**(16), 1211-1216.
- [276] HIRANO, S. a NOISHIKI, Y. *J. Biomed. Mater. Res.* 1985, **19**(4), 413-417.
- [277] HUANG, X. J. et al. *Eur. Polym. J.* 2007, **43**(9), 3710-3718.
- [278] TASHIRO, T. *Macromol. Mater. Eng.* 2001, **286**(2), 63-87.

- [279] IGNATOVA, M. et al. *Carbohydr. Res.* 2006, **341**(12), 2098-2107.
- [280] JIANG, H. et al. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 2004, **15**(3), 279-296.
- [281] WANG, Z. G. et al. *J. Molecular Catalysis B: Enzymatic.* 2009, **56**(4), 189-195.
- [282] DENG, H. T. et al. *Enzyme Microb. Technol.* 2005, **36**(7), 996-1002.
- [283] LOJDA, Z. *J. Histochem. Cytochem.* 1981, **29**(3A Suppl), 481-493.
- [284] LULLMANN, H. et al. *Farmakologie a toxikologie*. Praha: Grada Publishing, 2002.  
ISBN 80-7169-976-4.
- [285] GLAZIER, S. A. a HORVATH, J. J. *Analytical Letters*. 1995, **28**(15), 2607-2624.
- [286] SHARMA, R. K. et al. *Surf. Engin.* 2005, **21**(3), 232-237.

## 8. Vlastní publikace

### A. Vědecká a inženýrská činnost

Do roku 2009 publikováno pod příjmením I. Horská, dále publikace pod příjmením I. Šlamborová.

#### 1. Monografie

FOLPRECHTOVÁ, D. a **HORSKÁ, I.**: *Repetitorium chemie*. Liberec: Technická univerzita v Liberci, 2003. ISBN 80-7083-625-3. (skriptum)

#### 2. Článek v časopise s IF („Impact Factor“)

HAJKOVA, P., SPATENKA, P., HORSKY, J., **HORSKA, I.** a KOLOUCH, A.  
Photocatalytic Effect of TiO<sub>2</sub> Films on Viruses and Bacteria. *Plasma Processes and Polymers*. 2007, **4**(S1), S397-S401. ISSN 1612-8850. IF = 1,643.

HÁJKOVÁ, P., ŠPATENKA, P., HORSKÝ, J., **HORSKÁ, I.** a KOLOUCH, A. Antiviral and Antibacterial Effect of Photocatalytic TiO<sub>2</sub> Films. *Tissue Engineering*. 2007, **13**(4), 908. ISSN 1076-3279. IF = 4,636.

GHORANNEVISS, M., SHAHIDI, S., ANVARI, A., MOTAGHI, Z., WIENER, J.  
a **ŠLAMBOŘOVÁ, I.** Influence of plasma sputtering treatment on natural dyeing and antibacterial activity of wool fabrics. *Process Organic Coatings*. 2011, **70**(4), 388-393. ISSN 0300-9440. IF = 1,862.

**ŠLAMBOŘOVÁ, I.**, ZAJÍCOVÁ, V., KARPÍŠKOVÁ, J., EXNAR, P. a STIBOR, I. New Type of Protective Hybrid and Nanocomposite Hybrid Coatings Containing Silver and Copper with an Excellent Antibacterial Effect Especially Against MRSA. *Materials Science and Engineering: C*. 2012. ISSN 0928-4931. IF = 2,178. [ **Sumitted 10.4.2012** ]

### **3. Článek v recenzovaném časopise**

**ŠLAMBOŘOVÁ, I.**, WIENER, J. a MARTINKOVÁ, L. The kinetics of antibacterial effect tested on modified textile substrates. *Vlákna a Textil.* 2011, **18**(4), 25-31. ISSN 1335-0617.

EXNAR, P., **ŠLAMBOŘOVÁ, I.** a ZAJÍCOVÁ, V. Silanizace skleněných povrchů a její využití pro imobilizaci organických agens. *Sklář a keramik.* 2011, **62**(Zborník příspěvků), 72-77. ISSN 0037-637X.

**ŠLAMBOŘOVÁ, I.**, ZAJÍCOVÁ, V., KARPÍŠKOVÁ, J. a EXNAR, P. Immobilisation of antibiotic tetracycline on silica nanofibres. *Vlákna a Textil.* 2012, **19**(2), 3-9. ISSN 1335-0617.

### **4. Příspěvek ve sborníku konference**

**HORSKÁ, I.** a HORSKÝ, J. Možnosti enzym-biotechnologických postupů při zušlechťování ovčí vlny. In: *9. mezinárodní konference STRUTEX (Struktura a strukturní mechanika textilií), Liberec, prosinec 2002.* Liberec: Technická univerzita v Liberci, 2002, s. 389-391. ISBN 80-7083-668-7.

**HORSKÁ, I.**, MORAVCOVÁ, K. a WIENER, J. Enzymatic modification of polymers. In: *11<sup>th</sup> International Conference STRUTEX (Structure and Structural Mechanics of Textile Fabrics), Liberec, December 2004.* Liberec: Technická univerzita v Liberci, 2004, s. 293-300. ISBN 80-7083-891-4.

**HORSKÁ, I.**, WIENER, J. a KRUTSKÁ, Š. Degradation of Textile Fibre by Enzymes. In: *4<sup>th</sup> Central European Conference 2005 "Fibre-grade Polymers, Chemical Fibres and Special Textiles", Book of abstracts, Liberec, 7.-9. September 2005.* Liberec: Technická univerzita v Liberci, 2005, s. 43-44. Plný text na přiloženém CD-ROM, fpdf/1-pdf/017, 4 s. ISBN 80-7083-967-8.

**HORSKÁ, I.** a BENAGLIA, G. Enzymatic Aspects of Wool Fibre Finishing. In: *4<sup>th</sup> Central European Conference 2005 "Fibre-grade Polymers, Chemical Fibres and Special Textiles"*, *Book of abstracts, Liberec, 7.-9. September 2005*. Liberec: Technická univerzita v Liberci, 2005, s. 45-46. ISBN 80-7083-967-8.

HÁJKOVÁ, P., KOLOUCH, A., MACKOVÁ, A., HORÁKOVÁ, M., HOUDOVÁ, J., ŠPATENKA, P., **HORSKÁ, I.** a HUČEK, S. Photocatalytic Efficiency of Titanium Oxide Films deposited by PECVD Technique. In: *International Conference „Vacuum and Plasma Surface Engineering“*, *Liberec-Hejnice, 26. 10. 2006*. Liberec: Technická univerzita v Liberci, 2006, s. 22. ISBN 80-7372-129-5.

**HORSKÁ, I.**, HORSKÝ, J. a MIKULÁŠTÍK, J. New views of the native sheep fibre structure. In: *13<sup>th</sup> International Conference STRUTEX (Structure and Structural Mechanics of Textile Fabrics)*, *Liberec, November 2006*. Liberec: Technical University of Liberec, 2006, s. 359-362. ISBN 80-7372-135-X. Plný text na přiloženém CD-ROM, sekceII/Horskafull.pdf, 4 s.

KRUTSKÁ, Š., **HORSKÁ, I.**, HORSKÝ, J. a WIENER, J. Possibilities of Textile Waste Enzymatic Degradation. In: *13<sup>th</sup> International Conference STRUTEX (Structure and Structural Mechanics of Textile Fabrics)*, *Liberec, November 2006*. Liberec: Technical University of Liberec, 2006, s. 273-278. ISBN 80-7372-135-X. Plný text na přiloženém CD-ROM, sekceII/Krutskafull.pdf, 6 s.

GRÉGR, J., SLAVÍK, M., **HORSKÁ, I.** a MATĚJKOVÁ, S. Modelování velkých molekul a jejich interakcí. In: *Soudobé trendy v chemickém vzdělávání, Hradec Králové, 2006*. Hradec Králové: Univerzita Hradec Králové, 2006, s. 227-231. ISBN 80-7041-560-6.

HÁJKOVÁ, P., ŠPATENKA, P., HORSKÝ, J., **HORSKÁ, I.** a MÜLLEROVÁ, J. Antibakteriální a antivirové účinky TiO<sub>2</sub> vrstev. In: *Nanomateriály a Fotokatalýza: Sborník příspěvků – 1. seminář výzkumného centra NANOPIN, Praha, 9. 5. 2007*. Praha: VŠCHT, s. 57-59. ISBN 978-80-7080-005-8.

KRUTSKÁ, S., **HORSKÁ, I.**, HORSKÝ, J. a ŠPATENKA, P. Antibacterial effect of silver coated textile fabrics by sol-gel method. In: *International Student Conference of Department of Material Science, Liberec, 9. 10. 2007*. Liberec: Technical University of Liberec, s. 21-22. ISBN 978-80-7372-255-5.

HÁJKOVÁ, P., ŠPATENKA, P., KOLOUCH, A., **HORSKÁ, I.**, MÜLLEROVÁ, J. a KOČÍ, P. Photocatalytic decomposition of organic matter and microbe. In: *International Conference „Vacuum and Plasma Surface Engineering“, 24<sup>th</sup> - 26<sup>th</sup> October 2007, Liberec – Hejnice*. Liberec: Technical University of Liberec, s. 25-26. ISBN 978-80-7372-266-1.

HÁJKOVÁ, P., ŠPATENKA, P., HUBIČKA, Z., KOLOUCH, A., HORSKÝ, J. a **HORSKÁ, I.** Photocatalytic Decomposition of Organic Matter on Titanium Dioxide Film prepared by PEVCD. In: *Society of Vacuum Coaters: 50th Annual Technical Conference Proceedings, Louisville, April 28 – May 3, 2007*. Society of Vacuum Coaters, s. 117. ISSN 0737-5921.

KRUTSKA, S., **HORSKA, I.**, HORSKY, J., SPATENKA, P. a EXNAR, P. Development and perspective of modern wound dressing – antibacterial effect of silver. In: MILITKÝ, J. a MARŠÁLKOVÁ, M., eds. *6<sup>th</sup> Int. Conference TEXCSI 2007, Book of Abstracts, Liberec, June 5.-7, 2007*. Liberec: Technical University of Liberec, 2007, s. 267-268. Celý text na přiloženém CD-ROM, 6krutska\_full.pdf, 6 s. ISBN 978-80-7372-207-4.

KOŠŤÁKOVÁ, E., KORMANIKOVÁ, K. a **HORSKÁ, I.** Health risks of electrospun materials: resistivity against simulated lung fluid test. In: *16<sup>th</sup> International Conference STRUTEX (Structure and Structural Mechanics of Textile Fabrics), Liberec, December 2009*. Liberec, Technical University of Liberec, 2009, s. 146 - 147. ISBN 978-80-7372-542-6. Celý text na přiloženém CD-ROM, P\_KOŠŤÁKOVÁ\_09.pdf, 4 s.

**HORSKÁ, I.**, ZAJÍCOVÁ, V. a EXNAR, P. Layers of inorganic-organic materials prepared by sol-gel method. In: *73<sup>rd</sup> Prague Meeting on Macromolecules, New Frontiers in Macromolecular Science, Prague, July 5-9, 2009*. Prague: Institute of Macromolecular Chemistry AS CR, 2009, s. 86. ISBN 978-80-85009-59-0.



PETRÁKOVÁ, A. a ŠLAMBOROVÁ, I. Effectiveness of the weaving elements of fabrics in relation to the action of bacteria. In: *17<sup>th</sup> International Conference STRUTEX (Structure and Structural Mechanics of Textile Fabrics)*, Liberec, November 2010. Liberec, Technical University of Liberec, 2010, s. 93-94. ISBN 978-80-7372-664-5. Celý text na přiloženém CD-ROM, 34\_Petrakova\_full.pdf, 6 s.

ŠLAMBOROVÁ, I. a EXNAR, P. Vývoj nových typů bakteriocidních obvazových materiálů. In: DOLISTA, J., ed. *Práce pomáhajících profesí v oblasti zdravotnictví a sociální péče*. Praha: Evropské vzdělávací centrum, 2010, s. 422. ISBN 978-80-87386-10-1.

HORÁKOVÁ, M., MICHALČÍK, Z., KŘÍŽ, P., HORSKÁ, I., KLEMENTOVÁ, Š. a ŠPATENKA, P. Application of TiO<sub>2</sub> thin films with photocatalytic properties deposited by PECVD method with rating cathode. In: *53<sup>rd</sup> Annual Technical Conference Proceeding: Society of Vacuum Coaters, Orlando, USA, 2010*. Albuquerque: Society of Vacuum Coaters, s. 115-117. ISSN 0737-5921.

ŠAŠKOVÁ, J., WIENER, J., BUKVÁŘOVÁ, I. a ŠLAMBOROVÁ, I. The optimisation of electrochemical process of silver nanoparticles preparation, analysis and testing properties of prepared nanoparticles. In: *3<sup>rd</sup> International Conference Nanocon, Brno, September 21<sup>st</sup>-23<sup>rd</sup> 2011*. Brno, Tanger, 2011, s. 1-4. ISBN 978-80-87294-23-9

MICHALČÍK, Z., ŠLAMBOROVÁ, I., ZAJÍCOVÁ, V. a ŠPATENKA, P. Antibacterial properties of titanium oxides films with oriented growth. In: PAZOUREK, A. a PROKOPČÁKOVÁ, P., eds. *Book of Extended Abstracts, PANMS (Potential and Application of Nanotreatment of Medical Surfaces)*, Liberec, 5.-7. September 2011. Liberec: Technical University of Liberec, 2011, s. 16-20. ISBN 978-80-7372-756-7.

ŠLAMBOROVÁ, I., EXNAR, P. a ZAJÍCOVÁ V. Possibilities of immobilisation of selected bioactive compounds on nanofibers. In: PAZOUREK, A. a PROKOPČÁKOVÁ, P., eds. *Book of Extended Abstracts, PANMS (Potential and Application of Nanotreatment of Medical Surfaces)*, Liberec, 5.-7. September 2011. Liberec: Technical University of Liberec, 2011, s. 24-27. ISBN 978-80-7372-756-7.

**ŠLAMBOROVÁ, I., ZAJÍCOVÁ, V. a EXNAR, P.** New types of protective antibacterial hybrid and nanocomposite hybrid coatings prepared by sol-gel method. In: PAZOUREK, A. a PROKOPČÁKOVÁ, P., eds. *Book of Extended Abstracts, PANMS (Potential and Application of Nanotreatment of Medical Surfaces), Liberec, 5.-7. September 2011*. Liberec: Technical University of Liberec, 2011, s. 42-44. ISBN 978-80-7372-756-7.

**ŠLAMBOROVÁ, I., ZAJÍCOVÁ, V. a EXNAR, P.** Antibacterial Properties of Hybrid and Nanocomposite Hybrid Coatings Based on 3-trimethoxysilylpropyl methacrylate. In: ALI, N. a MITURA, S., eds. *Abstracts book, 6<sup>th</sup> NANOSMAT Conference, Krakow, Poland, 17.-20. October 2011*. Krakow: NANOSMAT, 2011, s. 185.

MICHALČÍK, Z., HORÁKOVÁ, M., MARTIN, N., **ŠLAMBOROVÁ, I.**, ŠPATENKA, P. a ZAJÍCOVÁ, V. New TiO<sub>x</sub> films with oriented growth and their photocatalytic and antibacterial effects. In: *54<sup>th</sup> Annual Technical Conference Proceedings, Chicago, April 16-21, 2011*. Society of Vacuum Coaters, 2011, s. 154-158. ISSN 0737-5921.

KOŇARIKOVÁ, J., EXNAR, P. a **ŠLAMBOROVÁ, I.** Silanization of surfaces and its application to the esterase enzyme immobilization on the surface of nanofibers. In: KUFFA, T. a kol., eds. *Proceedings of IX<sup>th</sup> Int. Conference „Preparation of Ceramic Materials“, Herľany, 14.-16. June, 2011*. Košice: Technical University of Košice, 2011, s. 53-56. ISBN 978-80-553-0678-0.

## 9. Přílohy

Protokol z akreditované laboratoře Textilního zkušebního ústavu, s. p. Brno o odolnosti proti penetraci mikrobů za sucha.